

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
INSTITUTO DE QUÍMICA DE ARARAQUARA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

HILÁRIO MONIZ BUANAR

Estudos computacionais de complexos de cobre e paládio II com potencial atividade anticâncer envolvendo a topoisomerase II alfa e as catepsinas B e L.

ARARAQUARA 2023

HILÁRIO MONIZ BUANAR

Estudos computacionais de complexos de cobre e paládio II com potencial atividade anticâncer envolvendo a topoisomerase II alfa e as catepsinas B e L.

Dissertação apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Nailton Monteiro do Nascimento Júnior

Coorientador: Prof. Dr. Adelino Vieira de Godoy Netto

Coorientador: Prof. Dr. Renan Lira de Farias

ARARAQUARA 2023

FICHA CATALOGRÁFICA

B917e Buanar, Hilário Moniz
Estudos computacionais de complexos de cobre e paládio II com potencial atividade anticâncer envolvendo a topoisomerase II alfa e as catepsinas B e L / Hilário Moniz Buanar. -- Araraquara, 2023

185 f. : il., tabs.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química, Araraquara

Orientador: Nailton Monteiro do Nascimento Júnior

Coorientador: Adelino Vieira de Godoy Neto

Coorientador: Renan Lira Farias

1. Química medicinal. 2. Inibidores enzimáticos. 3. Compostos de cobre. 4. Câncer. 5. Estudo de validação. I. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO


TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: *Estudos computacionais de complexos de cobre e paládio II com potencial atividade anti-tumoral envolvendo a topoisomerase II alfa e as catepsinas B e L*

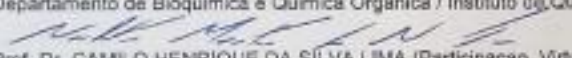
AUTOR: HILARIO MONIZ BUANAR

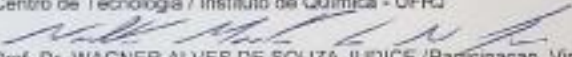
ORIENTADOR: NAILTON MONTEIRO DO NASCIMENTO JUNIOR

COORIENTADOR: RENAN LIRA DE FARIAS

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Biotecnologia, pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. NAILTON MONTEIRO DO NASCIMENTO JUNIOR (Participação Virtual)
Departamento de Bioquímica e Química Orgânica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara


Prof. Dr. CAMILO HENRIQUE DA SILVA LIMA (Participação Virtual)
Centro de Tecnologia / Instituto de Química - UFRJ


Prof. Dr. WAGNER ALVES DE SOUZA JUDICE (Participação Virtual)
Centro Interdisciplinar de Investigação Bioquímica-CIIB / Universidade de Mogi das Cruzes - UMC - Mogi das Cruzes

Araraquara, 28 de julho de 2023

Impacto esperado.

Os resultados de maior relevância para a comunidade acadêmica se referem ao uso de ferramentas computacionais, para o planejamento de novas substâncias bioativas. Durante o projeto, foram desenvolvidas estratégias computacionais que auxiliam na compreensão das características dos sítios ativos da topoisomerase II alfa, assim como nos sítios ativos das catepsinas B e L, além da construção de substâncias bioativas e potencialmente bioativas, incluindo a otimização por meio do método semiempírico PM7. Foram discutidos em detalhes alguns padrões de interação entre os complexos de cobre e paládio com algumas subunidades dos aminoácidos dos receptores correspondentes.

Expected impact.

The most relevant results for the academic community are related with to the use of computational tools for the design of novel bioactive substances. During the project, computational strategies were developed to guide in the comprehension of the features of the active sites of topoisomerase II alpha, as well as the active sites of cathepsins B and L. In addition, bioactive and potentially bioactive substances were built up and optimized through the PM7 semiempirical method. Some interaction patterns between copper and palladium complexes with some amino acid subunits into the corresponding receptors were discussed in details.

Atividades acadêmicas relevantes:

1. Resumo publicado em anais de evento científico:

Computational studies of palladium complexes with potential anticancer activity involving cathepsins B and L: Hilário Moniz Buanar, Bárbara Regina Santos Feitosa, Aline Aparecida de Souza, Wagner Alves de Souza Júdice, Renan L. Farias, Adelino V. G. Netto and Nailton M. Nascimento-Júnior. Apresentado em Poços de Caldas – MG, Brasil entre 25 e 28 de setembro de 2022.

A low-cost molecular docking methodology to predict interactions between inorganic complexes and biomacromolecules: Hilário Moniz Buanar, Daniel Andrés Grajales Ruiz, Renan Farias, Nailton M. Nascimento-Júnior. Apresentado em Poços de Caldas – MG, Brasil entre 25 e 28 de setembro de 2022.

Dedico esta Dissertação

A Deus Todo-poderoso e fonte inesgotável de ciência. Pelo dom da vida, amor e sustento, no qual encontro a fé e por revelar sua ciência na química medicinal.

Aos meus pais, **Moniz Buanar** e **Maria da Graça Hilário** e aos meus irmãos, **Michael Moniz Buanar**, **Odete Manuel da Silva**, **Elécia Manuel da Silva**, **Leopoldina Moniz Buanar**, **Moniza Moniz Buanar**, **Milena Moniz Buanar** e **Duarte Moniz Buanar**. pelo apoio emocional e, sobretudo pelo amor, otimismo e inspiração por fazerem de mim, muito mais do que eu mereço e por me ensinarem princípios inegociáveis.

À minha namorada, **Sónia Armando Benzane**, por estar sempre, me apoiando, incentivado e torcendo por mim.

Aos meus sobrinhos, **Dilon**, **Maria**, **Leopoldo**, **Heitor**, **Lúcia**, **Aguinácio** e **Yaricha**. Muito obrigado.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Dr. Nailton Monteiro do Nascimento Júnior, por sua competência, amizade e bom humor nos momentos de café, e por me inserir com muita dedicação na pesquisa científica e através de seus ensinamentos e conselhos contribuir de forma essencial para eu me tornar um pesquisador de excelência, muito obrigado pela confiança.

Ao coorientador, Prof. Dr. Adelino Vieira de Godoy Netto, por toda orientação, apoio e dedicação, em especial pela confiança depositada em mim, para estudos computacionais dos complexos inorgânicos por ele planejados.

Ao coorientador, Prof. Dr. Renan Lira de Farias pelos ensinamentos, apoio no desenvolvimento do projeto na etapa computacional, e a todos do Grupo de Química de Coordenação e Organometálicos que em algum momento me apoiaram.

As colegas Bárbara Regina Santos Feitosa e Marcelle Alcântara Vieira Rocha, por viabilizarem a realização dos estudos computacionais dos complexos de cobre e paládio (II).

Aos colegas do LaQMedSOMM, Daniel Andrés Grajales Ruiz, Victor de Sousa Batista, Leonardo Pecorari de Melo Simões, Bruna Cristina Lopes Domingues, Edith Consuelo Muñoz Ordoñez, e aos demais, com os quais trabalhei durante o projeto, seja em um longo ou curto período, agradeço pela amizade, discussões científicas e pelo compartilhar do conhecimento.

Ao Instituto de Química (IQ-CAR) e à Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita” (Unesp), pelo suporte, pela qualidade de ensino e infraestrutura oferecidos.

À banca examinadora do exame geral de qualificação, Prof. Dr. Sérgio de Paula Machado e Prof. Dr. Gustavo Henrique Goulart Trossini pelas excelentes contribuições que possibilitaram um trabalho final mais completo.

À banca examinadora de defesa de dissertação de mestrado, Prof. Dr. Camilo Henrique da Silva Lima e Prof. Dr. Wagner Alves de Sousa Júdice pelas excelentes contribuições que possibilitaram um trabalho final mais completo.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa concedida (Processo 130985/20210) e à Fundação de Amparo à pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, Processo 2018/00187-7) pelos recursos fornecidos.

Muito obrigado!

Resumo

Câncer é considerado uma das principais causas de morte em todo mundo. Conjunto de doenças que faz referência a características comuns, a metástase e a angiogênese. Embora haja uma produção de medicamentos para esta doença, existe baixa seletividade celular por parte dos fármacos comercializados para o tratamento. Com vista a encontrar soluções para o tratamento do câncer, surge a oportunidade de explorar novos complexos inorgânicos, que apresentem seletividade frente as células tumorais. Os complexos de cobre contendo subunidades da tiossemicarbazona e complexos de paládio com subunidades bipyridina e fenantrolina têm sido estudados por possuírem várias aplicações na Química Medicinal. Neste sentido foram ancoradas 32 substâncias para os sítios ativos das catepsinas B e L, assim como para os sítios do etoposídeo e ATP da topoisomerase II alfa. As enzimas proteolíticas como catepsinas (B e L) são ativamente envolvidas em etapas importantes da formação da célula tumoral, enquanto a enzima da topoisomerase II alfa é alvo, devido ao seu papel importante no gerenciamento da estrutura do DNA, em células tumorais, estas proteínas (catepsina B e L assim como topoisomerase II alfa), são altamente expressas. Inicialmente, foi realizada a validação de modelos *in silico* para as catepsinas (B e L), visto que, a validação dos sítios do ATP e do etoposídeo haviam sido feitos num outro trabalho pelo nosso grupo de pesquisa. Assim, os resultados da redocagem molecular, possibilitaram analisar as interações dos ligantes com os resíduos de aminoácidos do sítio ativo, onde foi possível verificar sistematicamente interação dos resíduos de aminoácidos, Q23, G27, C29, W30, G73, G74, A173 e G198, do sítio da catepsina B, e a mesma análise foi feita nos resultados do sítio ativo da catepsina L, onde foi possível verificar interação do ligante com os resíduos de aminoácidos de Q19, C25, W26, G61, G67, G68, L69, A135, M161, D162, H163 e A214. Os resultados no sítio ativo do etoposídeo demonstraram interações com os resíduos de Y805, M766 e M762, enquanto no sítio do ATP foram verificadas interações com os resíduos de K378 e N150.

Palavras-chave: Ancoragem molecular, complexos de cobre e paládio (II), catepsina (B, L), topoisomerase II alfa, atividade anticâncer.

ABSTRACT

Cancer is considered one of the main causes of death worldwide. It is a group of diseases that refer to common characteristics, metastasis, and angiogenesis. Although there is a production of drugs for this disease, there is low cellular selectivity by the drugs marketed for treatment. To find solutions for cancer treatment, the opportunity arises to explore novel compounds based on transition metals that present selectivity to cells. Copper complexes containing thiosemicarbazone and palladium complexes with bipyridine and phenanthroline subunits have been studied for their various applications in Medicinal Chemistry. In this sense, 32 substances were docked into the active sites of cathepsin B and L, as well as into the active sites of topoisomerase II alpha. Proteolytic enzymes such as cathepsins (B and L) are actively involved in important steps in the formation of tumor cells, while topoisomerases are targets of substances with antitumor activity due to their management of DNA structure, enzymes that are highly expressed in tumor cells. Initially, the validation of *in silico* models of cathepsins (B and L) was performed, since the ATP and etoposide sites were validated recently in our research group. Thus, the results of molecular redocking made it possible to analyze the interactions of the ligands with the amino acid residues of the active site, where it was possible to systematically verify the interactions involving Q23, G27, C29, W30, G73, G74, A173 and G198, of the cathepsin B site, and the same analysis was performed on the results of the active site of cathepsin L, where it was possible to verify the interaction of the ligands with Q19, C25, W26, G61, G67, G68, L69, A135, M161, D162, H163 and A214. The results at the etoposide active site showed interactions with Y805, M766 and M762, while at the ATP site there were interactions involving K378 and N150.

Keywords: Molecular docking, copper and palladium (II) complexes, cathepsin (B, L), topoisomerase II alpha, anticancer activity.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Distribuição percentual dos cânceres, mais incidentes no Brasil para o ano de 2022 em diferentes sexos. Adaptado pelo (INCA)..... 25
- Figura 2.** Esquema mostrando o processo de carcinogênese usando os três estágios: Iniciação, onde ocorre a formação de células mutadas, Promoção das células mutadas, esta fase ocorre maior proliferação celular e Progressão onde há formação de neoplasma. fonte adaptado de KLAUNIG; WANG, (2018) 26
- Figura 3.** Representação da estrutura tridimensional de uma cisteína-proteases onde os domínios esquerdo e direito estão representados por azul e marrom, o sítio catalítico está representado por bastões com os átomos de carbono, representados em azul, e a alça de oclusão representado em verde e em bastões dos resíduos da H110 e H111, PDB ID 1GMY. 28
- Figura 4.** Reação de clivagem de ligações peptídicas mediada pelas cisteína proteases. 29
- Figura 5.** Interação proposta entre o fragmento organopaladado e o resíduo Cys do sítio ativo da catepsina B. 30
- Figura 6.** Representação do ataque nucleofílico da tirosina em uma fita do DNA. Adaptado ao (FEI YOU; CHANGSHOU GAO, 2019)..... 31
- Figura 7.** Representação dos 180 complexos de cobre II, planejados como inibidores da topoisomerase II alfa. 33
- Figura 8.** Representação dos 12 complexos de paládio obtidos no laboratório de 34
- Figura 9.** Estrutura cristalográfica das catepsinas B, L e TOPII α : **(a)** Catepsina B Co-cristalizada com dipeptidil nitrila (PDB: ID: 1GMY), **(b)** Catepsina L co-cristalizada com (2S,4R)-1-[1-(4-clorofenil)ciclopropil-carbonil-4-(2-clorofenil)sulfonil-N-[1-(iminometil)ciclopropil-pirrolidina-2-carboxamida, **(c)** co- com o DNA e etoposídeo (PDB ID: 5GWK) e **(d)** co-cristalizada com o ATP (PDB ID: 1ZXM). 36
- Figura 10.** Redocagem da catepsina B co-cristalizada com dipeptidil nitrila (PDB ID:1GMY), interações de hidrogênio clássica estão representadas em preto. 39
- Figura 11.** redocagem da catepsina L co-cristalizada com nitrila (PDB ID: 2XU1). 40
- Figura 12.** Interação do complexo de Paládio Bipy-CH₃-Cl **(6)** com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio estão representadas em azul. 43
- Figura 13.** Interação do complexo de Paládio Bipy-H-H₂O **(9)** com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio clássica estão representadas em azul..... 43

Figura 14. Interação do complexo de Paládio Fen_H_H ₂ O (11) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio clássica estão representadas em azul.....	44
Figura 15. Interação do complexo de Paládio Fen_H (3) com os resíduos de aminoácidos.....	44
Figura 16. Interação do complexo de Paládio Fen_CH ₃ (4) com os resíduos de aminoácidos.....	45
Figura 17. Interação do complexo de Paládio Bipy_CH ₃ (2) com os resíduos de aminoácidos.....	45
Figura 18. Interação do complexo de Paládio Bipy_H (1) com os resíduos de aminoácidos.....	46
Figura 19. Interação do complexo de Paládio Bipy_H_Cl (5) com os resíduos de aminoácidos.....	46
Figura 20. Interação do complexo de Paládio Fen_H_Cl (7) com os resíduos de aminoácidos.....	47
Figura 21. Interação do complexo de Paládio Fen_CH ₃ _Cl (8) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio clássica estão representadas em azul.....	48
Figura 22. Interação do complexo de Paládio Bipy_CH ₃ _H ₂ O (10) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio clássica estão representadas em azul.....	48
Figura 23. Interação do complexo de Paládio Fen_CH ₃ _H ₂ O (12) com os resíduos de aminoácidos.....	49
Figura 24. Padrões de substituintes que demonstraram maior número de interações. ..	50
Figura 25. Interação do complexo de cobre 1E_2A_3D_4A (18) com os resíduos de aminoácidos da catepsina B (PDB:1GMV). Interações de hidrogênio estão representadas em azul.	53
Figura 26. Interação do complexo de cobre 1E_2B_3C_4C (20) com os resíduos de aminoácidos da catepsina B (PDB:1GMV). Interações de hidrogênio estão representadas em azul.	53
Figura 27. Interação do complexo de cobre 1A_2A_3C_4C (16) com os resíduos de aminoácidos da catepsina B (PDB:1GMV).	54
Figura 28. Interação do complexo de cobre 1D_2A_3A_4C (19) com os resíduos de aminoácidos da catepsina B (PDB:1GMV). Interações de hidrogênio estão representadas em azul.	55
Figura 29. Interação do complexo de cobre 1D_2A_3D_4A (15) com os resíduos de aminoácidos da catepsina B (PDB:1GMV). Interações de hidrogênio estão representadas em azul.	55

Figura 30. Interação do complexo de cobre 1E_2B_3D_4C (22) com os resíduos de aminoácidos da catepsina B (PDB:1GMY). Interações de hidrogênio estão representadas em azul.	56
Figura 31. Interação do complexo de cobre 1E_2A_3C_4B (14) com os resíduos de aminoácidos da catepsina B (PDB:1GMY).	57
Figura 32. Interação do complexo de cobre 1B_2A_3A_4C (21) com os resíduos de aminoácidos da catepsina B (PDB:1GMY). Interações de hidrogênio estão representadas em azul.	57
Figura 33. Interação do complexo de cobre 1A_2A_3D_4A (13) com os resíduos de aminoácidos da catepsina B (PDB:1GMY). Interações de hidrogênio estão representadas em azul.	58
Figura 34. Padrões de substituintes do complexo de cobre II que foram triados no sítio de ATP, e que demonstraram maior número de interações no sítio ativo da catepsina B.	59
Figura 35. Interação do complexo de cobre 1A_2A_3D_4C (28) com os resíduos de aminoácidos da catepsina B (PDB:1GMY).	61
Figura 36. Interação do complexo de cobre 1B_2B_3D_4A (25) com os resíduos de aminoácidos da catepsina B (PDB:1GMY). Interação de hidrogênio estão representadas em azul.	62
Figura 37. Interação do complexo de cobre 1C_2A_3D_4C (27) com os resíduos de aminoácidos da catepsina B (PDB:1GMY).	62
Figura 38. Interação do complexo de cobre 1D_2A_3D_4C (26) com os resíduos de aminoácidos da catepsina B (PDB:1GMY). Interação de hidrogênio estão representadas em azul.	63
Figura 39. Interação do complexo de cobre 1D_2B_3D_4C (29) com os resíduos de aminoácidos da catepsina B (PDB:1GMY).	64
Figura 40. Interação do complexo de cobre 1D_2C_3D_4C (24) com os resíduos de aminoácidos da catepsina B (PDB:1GMY).	64
Figura 41. Interação do complexo de cobre 1E_2C_3D_4C (23) com os resíduos de aminoácidos da catepsina B (PDB:1GMY). Interações de hidrogênio estão representadas azul.	65
Figura 42. Interação do complexo de cobre 1A_2B_3D_4C (30) com os resíduos de aminoácidos da catepsina B (PDB:1GMY).	66

Figura 43. Interação do complexo de cobre 1B_2B_3D_4C (17) com os resíduos de aminoácidos da catepsina B (PDB:1GMV). Interação de hidrogênio estão representadas em azul.	66
Figura 44. Interação do complexo de cobre 1B_2A_3D_4A (31) com os resíduos de aminoácidos da catepsina B (PDB:1GMV). Interação de hidrogênio estão representadas em azul.	67
Figura 45. Padrões de substituintes do complexo de cobre II que foram triados no sítio de etoposídeo, e que demonstraram maior número de interações no sítio ativo da catepsina B.	68
Figura 46. Interação do complexo de Paládio Fen_H_H ₂ O (11) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio clássica estão representadas em azul.....	71
Figura 47. Interação do complexo de Paládio Fen_H_Cl (7) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio clássica estão representadas em azul.....	71
Figura 48. Interação do complexo de Paládio Fen_CH ₃ _H ₂ O (12) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio clássica estão representadas em azul.....	72
Figura 49. Interação do complexo de Paládio Fen_CH ₃ _Cl (8) com os resíduos de aminoácidos.....	73
Figura 50. Interação do complexo de Paládio Fen_H (3) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio clássica estão representadas em azul.....	73
Figura 51. Interação do complexo de Paládio Bipy_CH ₃ _Cl (6) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio clássica estão representadas em azul.....	74
Figura 52. Interação do complexo de Paládio Bipy_CH ₃ (2) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio clássica estão representadas em azul.....	75
Figura 53. Interação do complexo de Paládio Bipy_H (1) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio clássica estão representadas em azul.....	75
Figura 54. Interação do complexo de Paládio Fen_CH ₃ (4) com os resíduos de aminoácidos.....	76
Figura 55. Interação do complexo de Paládio Bipy_CH ₃ _H ₂ O (10) com os resíduos de aminoácidos.....	76
Figura 56. Interação do complexo de Paládio Bipy_H_H ₂ O (9) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio clássica estão representadas em azul.....	77
Figura 57. Interação do complexo de Paládio Bipy_H_Cl (5) com os resíduos de aminoácidos.....	78
Figura 58. Padrões de substituintes do complexo de paládio II que demonstraram maior número de interações no sítio ativo da catepsina L.....	78

Figura 59. Interação do complexo de cobre 1D_2A_3D_4A (15) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.	81
Figura 60. Interação do complexo de cobre 1E_2A_3D_4A (18) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.	82
Figura 61. Interação do complexo de cobre 1B_2A_3A_4C (21) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.	82
Figura 62. Interação do complexo de cobre 1B_2B_3D_4C (17) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.	83
Figura 63. Interação do complexo de cobre 1A_2A_3D_4A (13) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.	84
Figura 64. Interação do complexo de cobre 1E_2A_3C_4B (14) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.	84
Figura 65. Interação do complexo de cobre 1A_2A_3C_4C (16) com os resíduos de aminoácidos.....	85
Figura 66. Interação do complexo de cobre 1D_2A_3A_4C (19) com os resíduos de aminoácidos.....	86
Figura 67. Interação do complexo de cobre 1E_2B_3C_4C (20) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.	86
Figura 68. Interação do complexo de cobre 1E_2B_3D_4C (22) com os resíduos de aminoácidos.....	87
Figura 69. Padrões de substituintes do complexo de cobre II que foram triados no sítio ativo do ATP, e que demonstraram maior número de interações no sítio ativo da catepsina L.	88
Figura 70. Interação do complexo de cobre 1B_2B_3D_4A (25) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.	91
Figura 71. Interação do complexo de cobre 1D_2B_3D_4C (29) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.	92
Figura 72. Interação de complexo de cobre 1B_2A_3D_4A (31) com o resíduo de aminoácidos. Interações. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.	92
Figura 73. Interação do complexo de cobre 1E_2C_3D_4C (23) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.	93
Figura 74. Interação do complexo de cobre 1C_2A_3D_4C (27) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio estão em azul.	94
Figura 75. Interação do complexo de cobre 1D_2A_3D_4C (26) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.	94

Figura 76. Interação do complexo de cobre 1A_2B_3D_4C (30) com os resíduos de aminoácidos.....	95
Figura 77. Interação do complexo de cobre 1D_2C_3D_4C (24) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.	96
Figura 78. Interação do complexo de cobre 1A_2A_3D_4C (30) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.	96
Figura 79. Padrões de substituintes do complexo de cobre II que foram triados no sítio ativo do etoposídeo, e que demonstraram maior número de interações no sítio ativo da catepsina L.	97
Figura 80. Interação do complexo de paládio Fen_CH ₃ _Cl (8) com os resíduos de aminoácidos do sítio da ATP. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.	100
Figura 81. Interação do complexo de paládio Fen_H (3) com os resíduos de aminoácidos do sítio da ATP. Interação de hidrogênio clássica está representada em azul.....	100
Figura 82. Interação do complexo de paládio Fen_CH ₃ _H ₂ O (12) com os resíduos de aminoácidos do sítio de ATP. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.	101
Figura 83. Interação do complexo de paládio bipy_H (1) com os resíduos de aminoácidos do sítio da ATP. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.....	101
Figura 84. Interação do complexo de paládio Fen_H_Cl (7) com os resíduos de aminoácidos do sítio ativo de ATP. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.	102
Figura 85. Interação do complexo de paládio Fen_CH ₃ (4) com os resíduos de aminoácidos do sítio ativo de ATP. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.	103
Figura 86. Interação do complexo de paládio Fen_H_H ₂ O (11) com os resíduos de aminoácidos do sítio de ATP. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.	103
Figura 87. Interação do complexo de paládio bipy_CH ₃ (2) com os resíduos de aminoácidos do sítio da ATP.	104
Figura 88. Interação do complexo de paládio bipy_H_Cl (5) com os resíduos de aminoácidos do sítio da ATP. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.	104

Figura 89. Interação do complexo de paládio bipy_CH ₃ _Cl (6) com os resíduos de aminoácidos do sítio de ATP. Interações de hidrogênio estão representadas azul.	105
Figura 90. Interação do complexo de paládio bipy_H_H ₂ O (9) com os resíduos de aminoácidos do sítio da ATP. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.	105
Figura 91. Interação do complexo de paládio bipy_CH ₃ _H ₂ O (10) com os resíduos de aminoácidos do sítio da ATP. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.	106
Figura 92. Padrões de substituintes do complexo de paládio II que demonstraram maior número de interações no sítio ativo da do ATP.	106
Figura 93. Interação do complexo de cobre II 1D_2A_3D_4A (15) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.	109
Figura 94. Interação do complexo de cobre II 1A_2A_3D_4A (13) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.	109
Figura 95. Interação do complexo de cobre II 1E_2B_3C_4C (20) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.	110
Figura 96. Interação do complexo de cobre II 1B_2B_3D_4C (17) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.	111
Figura 97. Interação do complexo de cobre II 1E_2A_3C_4B (14) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.	112
Figura 98. Interação do complexo de cobre II 1A_2A_3C_4C (16) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.	112
Figura 99. Interação do complexo de cobre II 1D_2A_3A_4C (19) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.	113
Figura 100. Interação do complexo de cobre II 1E_2A_3D_4A (18) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.	114
Figura 101. Interação do complexo de cobre II 1B_2A_3A_4C (21) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.	114
Figura 102. Interação do complexo de cobre II 1E_2B_3D_4C (22) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.	115
Figura 103. Padrão de substituintes de complexo de cobre II que demonstraram maior número de interações no sítio ativo de ATP.	116

Figura 104. Interação do complexo de paládio Bipy_CH ₃ (2) com os resíduos de aminoácidos e as bases do DNA. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.....	119
Figura 105. Interação do complexo de paládio Bipy_CH ₃ _Cl (6) com os resíduos de aminoácidos e as bases do DNA. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.....	119
Figura 106. Interação do complexo de paládio Bipy_CH ₃ _H ₂ O (10) com os resíduos de aminoácidos e as bases do DNA. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.....	120
Figura 107. Interação do complexo de paládio Bipy_H_Cl (5) com os resíduos de aminoácidos e as bases do DNA. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.....	121
Figura 108. Interação do complexo de paládio Fen_CH ₃ (4) com os resíduos de aminoácidos e as bases do DNA. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.....	121
Figura 109. Interações entre o complexo Fen_H_Cl (7) com os resíduos de aminoácidos e as bases do DNA. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.....	122
Figura 110. Interações entre o complexo Fen_H_H ₂ O (11) com os resíduos de aminoácidos e as bases do DNA. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.....	122
Figura 111. Interações entre o complexo Bipy_H_H ₂ O (9) com os resíduos de aminoácidos e as bases do DNA. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.....	123
Figura 112. Interações entre o complexo Fen_CH ₃ _Cl (8) com os resíduos de aminoácidos e as bases do DNA. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.....	124
Figura 113. Interações entre o complexo Fen_CH ₃ _H ₂ O (12) com os resíduos de aminoácidos e as bases do DNA. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.....	124
Figura 114. Padrão de substituintes de complexo de paládio II que demonstraram maior número de interações no sítio ativo de etoposídeo.	125
Figura 115. Interações entre o complexo 1E_2C_3D_4C (23) com os resíduos de aminoácidos e as bases do DNA. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.....	128

Figura 116. Interações entre o complexo 1D_2C_3D_4C (24) com os resíduos de aminoácidos e as bases do DNA. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.....	129
Figura 117. Interações entre o complexo 1B_2B_3D_4A (25) com os resíduos de aminoácidos e as bases do DNA. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.....	130
Figura 118. Interações entre o complexo 1D_2A_3D_4C (26) com os resíduos de aminoácidos e as bases do DNA. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.....	131
Figura 119. Interações entre o complexo 1C_2A_3D_4C (27) com os resíduos de aminoácidos e as bases do DNA. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.....	132
Figura 120. Interações entre o complexo 1B_2B_3D_4C (17) com os resíduos de aminoácidos e as bases do DNA. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.....	133
Figura 121. Interações entre o complexo 1A_2A_3D_4C (28) com os resíduos de aminoácidos e as bases do DNA.....	134
Figura 122. Interações entre o complexo 1D_2B_3D_4C (29) com os resíduos de aminoácidos e as bases do DNA. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.....	135
Figura 123. Interações entre o complexo 1A_2B_3D_4C (30) com os resíduos de aminoácidos e as bases do DNA. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.....	136
Figura 124. Interações entre o complexo 1B_2A_3D_4A (31) com os resíduos de aminoácidos e as bases do DNA. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.....	137
Figura 125. Padrão de substituintes que demonstraram maior número de interações.	138
Figura 126. Complexo de paládio Bipy_CH3_Cl (6), que obteve interação com os resíduos de aminoácidos nos sítios de catepsina B e no sítio de etoposídeo.	139
Figura 127. Complexo de paládio Fen_CH3_Cl (8), que obteve interação com os resíduos de aminoácidos nos sítios de catepsina L e no sítio de ATP.	139
Figura 128. Complexo de cobre 1B_2B_3D_4A (25) que obteve interação com os resíduos de aminoácidos nos sítios de catepsina B e L.	139
Figura 129. Complexo de cobre 1E_2A_3D_4A (18) que obteve interação com os resíduos de aminoácidos nos sítios de catepsina B e L.	140

Figura 130. Sítio ativos identificados pelo Ftsite da enzima catepsina B (PDB 1GMY), os aminoácidos representados estão a uma distância menor de 5Å.....	141
Figura 131. O volume do sítio ativo = 347 Å da catepsina B PDB ID (1GMY) representado em roxo.....	141
Figura 132. Regiões de sítio ativo identificado pelo FTsite da enzima catepsina L (PDB 2XU1), os aminoácidos representados estão a uma distância menor de 5Å.....	142
Figura 133. Volume do sítio ativo = 154 Å da catepsina L PDB ID (2XU1), representado em verde e em roxo.....	142
Figura 134. Sítios ativos do cálculo de sondagem do FTMap no sítio da catepsina B (PDB ID: 1gmy). O bolsão 1 apresentou melhor afinidade ao se ligar com os com maior número de solventes.	143
Figura 135. Principais sítios ativos do cálculo da sondagem do FTMap no sítio da catepsina L (PDB ID: 2xu1) localizados em três bolsões. O bolsão 1 apresentou melhor afinidade ao se ligar com os com maior número de solventes.	145
Figura 136. ligante da literatura no sítio ativo da catepsina B com $K_i = 21.0 \pm 6$ nM (DRAĞ et al., 2013).....	146
Figura 137. ligante da literatura no sítio ativo da catepsina B com $K_i = 60.0 \pm 5$ nM (DRAĞ et al., 2013).....	147
Figura 138. ligante da literatura no sítio ativo da catepsina B com $K_i = 167,0$ nM ChEMBL 169448 (KIM et al., 2004).	148
Figura 139. ligante da literatura no sítio ativo da catepsina B com $K_i = 7,0$ nM ChEMBL 171403 (KIM et al., 2004).	148
Figura 140. ligante da literatura no sítio ativo da catepsina B com $K_i = 12,0$ nM ChEMBL 172456 (KIM et al., 2004).	149
Figura 141. ligante da literatura no sítio ativo da catepsina L com $K_i = 1$ nM ChEMBL 169448 (KIM et al., 2004).	150
Figura 142. ligante da literatura no sítio ativo da catepsina L com $K_i = 1$ nM ChEMBL 171403 (KIM et al., 2004).	150
Figura 143. ligante da literatura no sítio ativo da catepsina L com $K_i = 5$ nM ChEMBL 203052 (ALPER et al., 2006).	151
Figura 144. ligante da literatura no sítio ativo da catepsina L com $K_i = 75$ nM ChEMBL 212176 (TULLY et al., 2006).....	152
Figura 145. ligante da literatura no sítio ativo da catepsina L com $K_i = 45$ nM ChEMBL 386383 (TULLY et al., 2006).....	152

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Classificação dos valores de atividade (Ki) das substâncias obtidas na literatura.....	37
Tabela 2. Valores obtidos por redocagem molecular em cada função de pontuação do software Gold da estrutura da enzima de catepsina B (PDB ID: 1GMV).	38
Tabela 3. Valores obtidos por redocagem molecular em cada função de pontuação do software Gold da estrutura da enzima de catepsina L (PDB ID: 2XU1).....	39
Tabela 4. Interação dos complexos de paládio II frente aos resíduos de aminoácidos da catapsina B (PDB ID: 1GMV).....	42
Tabela 5. Interação de 09 melhores complexos de cobre, que apresentaram melhores interações no sítio do ATP frente aos resíduos de aminoácidos da catepsina B (PDB ID: 1GMV).....	52
Tabela 6. Interação de 10 melhores complexos de cobre, que apresentaram melhores interações ao sítio do etoposídeo frente aos resíduos de aminoácidos da catepsina B (PDB ID: 1GMV).	60
Tabela 7. Interação dos complexos de paládio frente aos resíduos de aminoácidos da catapsina L (PDB ID: 2XU1).	70
Tabela 8. Interação de 10 melhores complexos de cobre, que apresentaram melhores interações no sítio do ATP frente aos resíduos de aminoácidos da catepsina L (PDB ID: 2XU1).....	80
Tabela 9. Interação dos 10 melhores complexos de cobre, que apresentaram melhores interações ao sítio do etoposídeo frente aos resíduos de aminoácidos da catepsina L (PDB ID: 2XU1).	90
Tabela 10. Interação dos 12 complexos de paládio frente aos resíduos de aminoácidos do sítio de ATP (PDB ID: 1ZXM).	99
Tabela 11. Interação dos 10 complexos de cobre frente aos resíduos de aminoácidos do sítio de ATP (PDB ID: 1ZXM).	108
Tabela 12. Interação de 10 complexos de paládio frente aos resíduos de aminoácidos do sítio do etoposídeo (PDB ID: 5GWK F1).....	118
Tabela 13. Interação dos 10 complexos de cobre frente aos resíduos de aminoácidos do sítio do etoposídeo (PDB ID: 5GWK F1).....	127
Tabela 14. Proporções (%) das interações dos ligantes da literatura, com os resíduos de aminoácidos do sítio ativo da catepsina B.	153
Tabela 15. Proporções (%) das interações dos ligantes da literatura, com os resíduos de aminoácidos do sítio ativo da catepsina L.	154

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1.** Representação da incidência do câncer (em azul) e a taxa de mortalidade (em vermelho), no ano de 2020 em todo mundo, para os ambos os sexos (feminino e masculino) em todas as idades (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2020).....24
- Gráfico 2.** aminoácidos com interações de hidrogênio, % acima de 3,9 representam aminoácidos com probabilidade maior de realizarem interações de hidrogênio... 144
- Gráfico 3.** aminoácidos com interações hidrofóbicas, % acima de 2,7 representam aminoácidos com probabilidade maior das suas cadeias realizarem hidrofóbicas.
..... 144
- Gráfico 4.** Aminoácidos com interações de , % acima de 7 representam aminoácidos com probabilidade maior de realizarem interações de hidrogênio..... 146
- Gráfico 5.** aminoácidos com interações hidrofóbicas, % acima de 3 representam aminoácidos com probabilidade maior das suas cadeias realizarem hidrofóbicas.
..... 146

ÍNDICE

1.INTRODUÇÃO.....	24
1.1. Visão global.....	24
1.2. Aspectos gerais das catepsinas B e L.....	27
1.3 Topoisomerases.....	31
2. Planejamento dos complexos de cobre.....	32
2.1 Obtenção dos complexos de paládio.	33
3. OBJETIVOS.	34
3.1 Objetivo Geral.	34
3.2 Objetivos Específicos	34
4.METODOLOGIA COMPUTACIONAL	35
5. RESULTADOS OBTIDOS IN SILICO	37
5.1 Redocagem nas catepsinas B e L.....	37
5.2 Resultados da ancoragem molecular da catepsina B complexada com a ???.....	40
5.3) Resultados da ancoragem molecular da catepsina B complexada com a dipeptidel nitrila derivados de complexo de cobre II.....	50
5.4 Resultados da ancoragem molecular da catepsina B complexada com a dipeptidel nitrila derivados de complexo de cobre II que se encaixaram bem no sítio ativo do etoposídeo.....	59
5.5) Resultados da ancoragem molecular da catepsina L complexada com a substância de código ChemBL de 424, derivados de complexo de paládio II.....	69
5.6) Resultados da ancoragem molecular da catepsina L complexada com a substância de código ChemBL de 424 derivados de complexo de cobre II que se encaixaram melhor no sítio de ATP.	79
5.7) Resultados da ancoragem molecular da catepsina L complexada com a substância de código ChemBL de 424 derivados de complexo de cobre que se encaixaram melhor no sítio ativo do etoposídeo.	88
5.8) Resultados da ancoragem molecular do sítio ativo da topo II alfa co-cristalizada com ATP, derivados de complexo de paládio II.	97
5.9) Resultados da ancoragem molecular do sítio ativo da topo II alfa co-cristalizada com ATP.....	107

5.10) Resultados da ancoragem molecular derivados de complexo de paládio II no sítio ativo da topo II alfa co-cristalizada com etoposídeo e DNA.....	116
5.11) Resultados da ancoragem molecular do sítio ativo da topo II alfa co-cristalizada com etoposídeo e DNA, derivados de complexo de cobre.....	126
5.12) Potencial atividade dual frente as enzimas de catepsina (B e L) ou ATP/etoposídeo.....	138
6. ANCORAGEM MOLECULAR DAS SUBSTÂNCIAS DA LITERATURA	140
7. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS.....	155
8. REFERÊNCIAS	156
9. ANEXOS.....	162

1. INTRODUÇÃO

1.1. Visão global

O termo câncer, refere-se a um termo genérico para um conjunto de mais de 100 doenças que apresentam como característica comum o crescimento desordenado de células que invadem tecidos e órgãos, que podem se espalhar para outras regiões do corpo, se infiltrando em tecidos e ganhando acesso a vasos sanguíneos, através dos quais serão transportadas para outras partes do corpo, processo denominado por metástase (INCA, 2020; NAVEEN KUMAR et al, 2013).

O câncer é o principal problema de saúde pública no mundo, e está entre as quatro principais causas de morte prematura antes dos 70 anos de idade, na maioria dos países do mundo. A incidência e a mortalidade por câncer vêm aumentando no mundo (INCA, 2020). A OMS (2020), aponta que o ano 2020 no mundo ocorreram 19,3 milhões de novos casos de câncer e 10,0 milhões de óbitos, a mesma pesquisa apontou que 1 em cada 5 pessoas no mundo desenvolvem câncer durante a vida, e 1 em cada 8 homens e 1 em cada 11 mulheres morem devido ao câncer mundialmente (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2020). Segundo Instituto Nacional de Câncer (INCA), em cada ano do triênio de 2023-2025 o Brasil espera 704 mil novos casos de câncer (INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER, 2022).

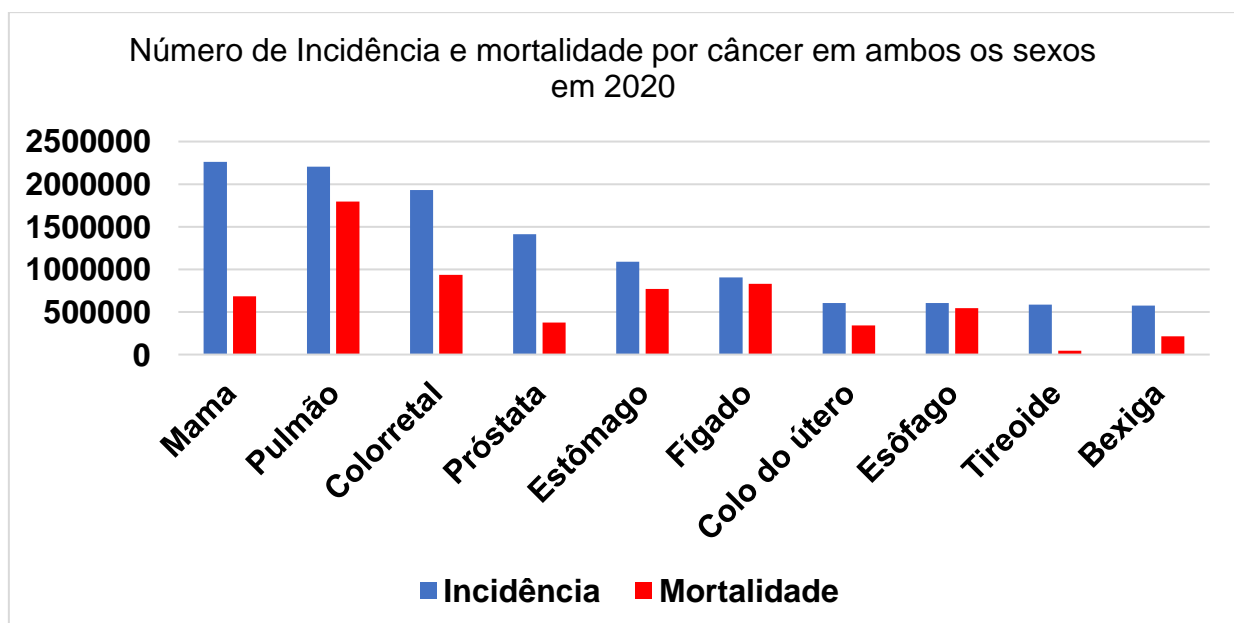


Gráfico 1. Representação da incidência do câncer (em azul) e a taxa de mortalidade (em vermelho), no ano de 2020 em todo mundo, para os ambos os sexos (feminino e masculino) em todas as idades (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2020).

A análise do **Gráfico 1** revela a alta taxa de incidência para os cânceres de mama, pulmão, colorretal, sendo o de mama com a maior taxa entre todos. É notório observar que em relação a taxa de mortalidade, o câncer da mama, apesar de ter uma alta taxa de incidência, ela apresenta uma taxa de 30% de mortalidade, quando comparado com a taxa do segundo câncer, mas incidente, denominado câncer de pulmão, que é de 81% de mortalidade. Vale ressaltar que o câncer de fígado e de esôfago, apresentaram menores índices de incidências e maiores taxas de mortalidade, onde o câncer do fígado mostrou uma taxa de 92% de mortalidade, seguido do câncer de esôfago, com uma taxa de 90%. Contudo, a taxa de incidência não é proporcional a taxa de mortalidade.

Estudo feito pelo INCA, em 2022, em relação a incidência estimada do câncer, segundo a localização primária por sexo no Brasil, apontou que houve 244.160 casos de câncer no sexo masculino (**figura 1, a**). Por outro lado, houve uma incidência de 239.430 casos de câncer no sexo feminino (**figura 1, b**).

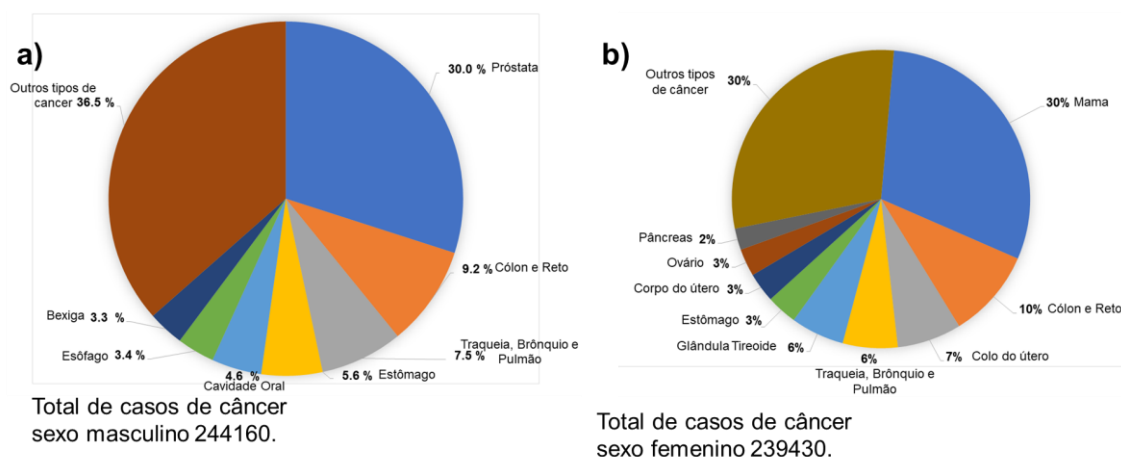


Figura 1. Distribuição percentual dos canceres, mais incidentes no Brasil para o ano de 2022 em diferentes sexos. Adaptado pelo (INCA).

A **Figura 1** mostra as incidências de 5 principais tipos de câncer no Brasil em ambos os sexos em todas as faixas etárias. Este estudo, relacionou que o aumento da incidência, está relacionado com os hábitos de vida, como alimentação, sedentarismo, e aumento da expectativa de vida da população (INSTITUTO NACIONAL DE CANCER, 2022). Em homens, a maior incidência está no câncer de próstata e nas mulheres, o câncer de mama. Em ambos os sexos, o câncer colorretal segue apresentando a segunda maior incidência no Brasil.

A formação de uma neoplasia é um processo que engloba uma série de etapas na qual uma célula normal sofre modificações no seu material genético. Essas modificações podem ser resultado da exposição prolongada a agentes carcinogênicos (PAULA A. OLIVEIRA et al., 2007), onde o conteúdo genético de um pequeno número de células é alterado como predisposição genética e hereditariedade (American Cancer Society, 2022; JASON M. HANSEN et al., 2018)

Entretanto quando uma célula sofre modificações na sua informação genética, o processo regulatório do ciclo celular vai impedir a célula de desempenhar o seu papel normal. O processo de formação de uma massa tumoral se denomina por carcinogênese e pode ser compreendido por três etapas principais: iniciação, promoção e progressão (**Figura 2**). No primeiro estágio (iniciação), seja por disfunções epigenéticas ou exposição prolongada a agentes carcinogênicos, o conteúdo genético de um pequeno número de células é alterado. Observa-se ativação da oncogene e inativação do gene p53 (supressor do tumor). Na segunda etapa (promoção), as células tornam-se malignas com metabolismos aberrantes. Finalmente, no terceiro estágio (progressão) ocorre a multiplicação descontrolada de células anômalas que culmina na formação do tumor (JASON M. HANSEN et al., 2018).

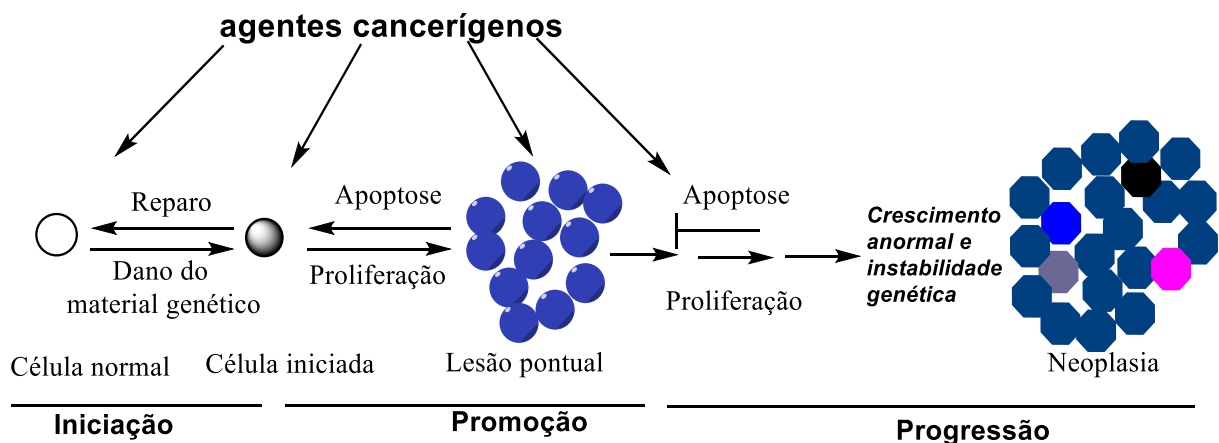


Figura 2. Esquema mostrando o processo de carcinogênese usando os três estágios: Iniciação, onde ocorre a formação de células mutadas, Promoção das células mutadas, esta fase ocorre maior proliferação celular e Progressão onde há formação de neoplasma. fonte adaptado de KLAUNIG; WANG, (2018)

Como o microambiente tumoral é hipóxico e ácido, a vascularização é estimulada para suprir a demanda de nutrientes e oxigênio para o crescimento tumoral (FOLKMAN, 2002). Esse processo é denominado angiogênese e tem relação íntima com quadros clínicos de cânceres invasivos. Tumores sólidos com superexpressão de proteases

(principalmente as catepsinas B e L) facilmente comprometem a membrana basal, permitindo-lhes acesso a corrente sanguínea e, por conseguinte, se redistribuir para outras partes do corpo (MORT; BUTTLE', 1997; SIMON P. FRICKER, 2010). Este processo é denominado metástase e se configura como um dos maiores entraves à terapêutica do câncer (FARES et al, 2020; FOLKMAN, 2002).

Após o diagnóstico, a modalidade para o tratamento a ser adotado dependerá do grau de disseminação do tumor, das características biológicas e do quadro clínico do paciente. Portanto, podem ser prescritos procedimentos localizados (cirurgia e radioterapia), assim como os procedimentos sistêmicos (quimioterapia, hormonioterapia e terapia alvo). Nas últimas décadas, a escolha pela quimioterapia, ou uma combinação desta com outra modalidade, tem prevalecido (INCA, 2020). Por exemplo, em estágios avançados, pacientes têm sido tratados com radioterapia combinada ao antimetabólico 5-Fluoracil (5-FU), capaz de bloquear a síntese do DNA (RAO et al., 2015). De forma geral o tratamento do câncer tem sido feito de forma combinada, para obtenção da maior taxa de sucesso para o tratamento (INSTITUTO NACIONAL DE CANCER, 2022).

1.2. Aspectos gerais das catepsinas B e L.

As cisteino-proteases pertencem a família das papaínas, que podem ser encontradas em diferentes organismos incluindo, bactérias, vírus, plantas e animais. Até o momento são conhecidos 11 tipos de catepsinas que podem ser achadas no organismo humano, dentre elas são catepsinas (B, L, H, S, K, F, V, X, W, O e C). As cisteino-proteases são caracterizadas por formarem uma tríade catalítica no seu sítio ativo composto por resíduo de cisteína (C25), histidina (H159) e asparagina (N175). A ação destas enzimas está envolvida na degradação e processamento intracelular das proteínas. (HANS-HARTWIG OTTO; TANJA SCHIRMEISTER, 1976; LECAILLE et al., 2022; VITO TURKA et al., 2002; YU-YAO LI; JING FANG; GUI-ZHEN AO., 2017).

Dentre as cisteino-proteases, as catepsinas B e L, estão ativamente envolvidas em várias etapas de formação de célula tumoral, incluindo, descolamento de células tumorais iniciais para outras partes do organismo, degradação de matrizes extracelulares, intravasamento e extravasamento das células (DHIVYA R. SUDHAN; DIETMAR W. SIEMANN, 2015; SIMON P. FRICKER, 2010). Este processo é denominado por metástase, e é uma marca representativa do câncer em que provoca à falha no tratamento, levando à morte de muitos pacientes. Em outros tipos de câncer, o

diagnostico metastático têm sido relacionados com estágio final de câncer(PARK et al., 2022; XIONG; DONG; CHENG, 2021).

A catepsina B é a enzima mais estudada, com um peso molecular de 30 KDa, com o sítio catalítico posicionado na reentrância entre os dois domínios e encoberto por uma sequência de aminoácidos que formam uma alça de oclusão, protegendo o sítio ativo (VITO TURKA et al., 2002; YU-YAO LI; JING FANG; GUI-ZHEN AO., 2017). A alça de oclusão é composta por 102-128 resíduos de aminoácidos contendo dois resíduos (H110 e H111) (**Figura 3**), que interagem diretamente com a cadeia C-terminal do grupo carboxílico. Estes resíduos de H110 e H111 encontram-se protonadas, isto, permite que a catepsina B atua como endo ou exo-peptidase, sendo está uma característica individual desta enzima (CARRILHO et al., 2020; SCHMITZ et al., 2019; YOON et al., 2022; YOON; HOOK; O'DONOGHUE, 2022).

O sítio ativo da catepsina B é composto por um resíduo de cisteína (C29) situado no domínio esquerdo (L) da enzima e um resíduo de histidina (H199) situado no domínio direito (R) (**Figura 3**), no ambiente especializado deste sítio, os grupamentos tiol e imidazólico destes resíduos de aminoácidos formam um par iônico na faixa de pH entre 4,0 e 8,5 (SCHMITZ et al., 2019).

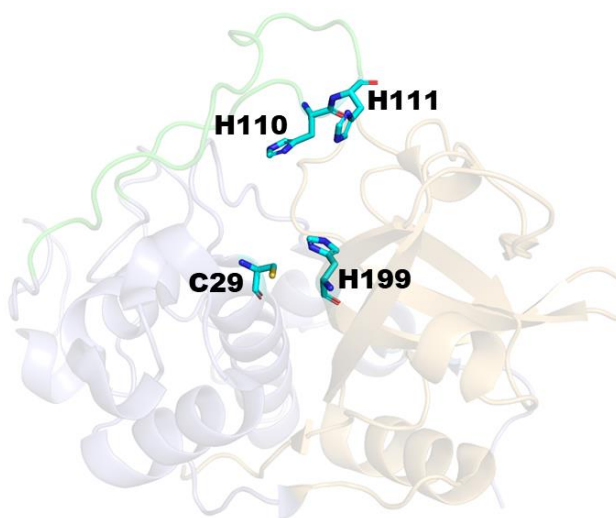


Figura 3. Representação da estrutura tridimensional de uma cisteíno-proteases onde os domínios esquerdos e direito estão representados por azul e marrom, o sítio catalítico está representado por bastões com os átomos de carbono, representados em azul, e a alça de oclusão representado em verde e em bastões dos resíduos da H110 e H111, PDB ID 1GMV.

Fonte: próprio autor.

A clivagem de uma ligação peptídica é mediada por um ataque nucleofílico do grupo tiolato presente em C29 ao átomo de carbono carbonílico de uma proteína (**Figura 4**). Em tecidos não patológicos, a catepsina B é ativa em pH levemente ácido, em torno de 5, característico dos lisossomos, onde exerce sua função, sendo raramente encontrada em meio extracelular, devido a sua baixa estabilidade em pH neutro a alcalino (LÖSER; PIETZSCH, 2015; OTTO; SCHIRMEISTER, 1997). Entretanto, alguns tecidos tumorais são capazes de sintetizar moléculas de catepsina B com massa molecular maior e estabilidade anormal em pH neutro a alcalino. Esta variação da enzima pode ser encontrada na fração extracelular de tecidos patológicos, em concentrações até 30 vezes maiores do que o normal (LÖSER; PIETZSCH, 2015)

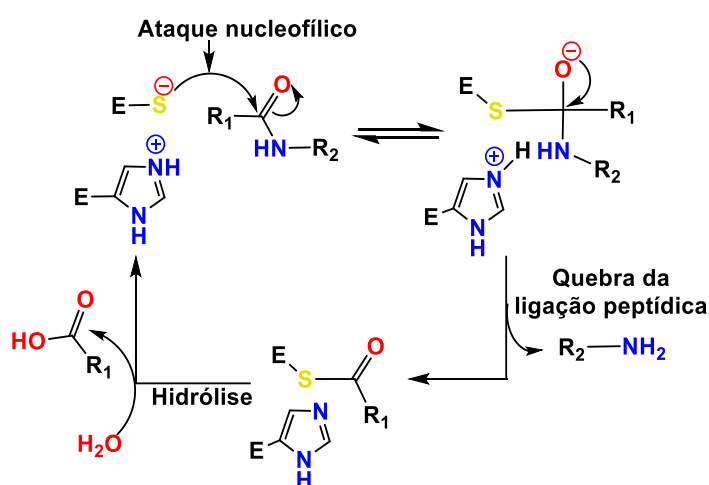


Figura 4. Reação de clivagem de ligações peptídicas mediada pelas cisteíno proteases.

adaptado a (LÖSER; PIETZSCH, 2015; OTTO; SCHIRMEISTER, 1997).

A ação proteolítica destas espécies está envolvida no processo de degradação dos componentes formadores da matriz extracelular, o que leva à metástase e invasão tumoral de tecidos vizinhos. A enzima produzida pelos tecidos tumorais liga-se à superfície da membrana plasmática das células, impedindo a ação de inibidores endógenos (OTTO; SCHIRMEISTER, 1997). Assim, a sua atividade relaciona-se diretamente com a agressividade do tumor e a detecção de níveis elevados de catepsina B em casos de câncer de pulmão pode ser correlacionada com prognóstico de pouca sobrevivência. Dessa forma, a catepsina B constitui um alvo farmacológico promissor para o controle da progressão tumoral. Entretanto, devido a sua proximidade com a histidina presente no sítio ativo, o pK_a desse grupo tiol é significativamente menor e pode

ser atacado por grupos eletrofílicos (LECAILLE et al., 2022; WILLENBROCK; BROCKLEHURST, 1985; WILLENBROCK; BROCKLEHURST, 1986).

De acordo com a hipótese de (SIMON P. FRICKER, 2010), um complexo metálico pode inibir uma cisteína protease a partir de reações de troca de ligantes com o grupo tiol do sítio ativo. O pK_a reduzido do tiol da cisteína presente no sítio ativo resulta em um grupo tiolato completamente ionizado que favorece a sua interação frente ao íon Pd(II) (FRICKER, 2010). Nesse contexto, (JOHN SPENCER ET AL, 2009) investigaram a atividade antitumoral do complexo ciclometalado binuclear $[Pd_2Cl_2(C^2,N-L)_2(\mu-dppe)]$ {L=1-metil-5-fenil-1H-1,4-benzodiazepina-2(3H)-ona}. O índice de citotoxicidade (Cl_{50}) *in vitro* deste composto contra células de leucemia humana K562 foi igual a $4,3 \mu M$. O complexo mostrou-se extremamente citotóxico também à linhagem B16 de melanoma pulmonar metastático murino, com IC_{50} igual a $4,2 nM$, enquanto a cisplatina apresentou Cl_{50} de $3,0 \mu M$. Esse ciclopaladado induziu a inibição da catepsina B sob uma concentração de Cl_{50} de $2,98 \mu M$. Segundo os autores, sugere-se que o resíduo de cisteína existente no sítio catalítico da catepsina B coordena-se ao paládio pela substituição de um dos seus ligantes lábeis ($X = Cl^-, H_2O$), enquanto o restante do arcabouço estrutural do complexo pode estabelecer interações não-covalentes favoráveis com outros resíduos na cavidade do sítio ativo (JOHN SPENCER ET AL, 2009) (**Figura 5**).

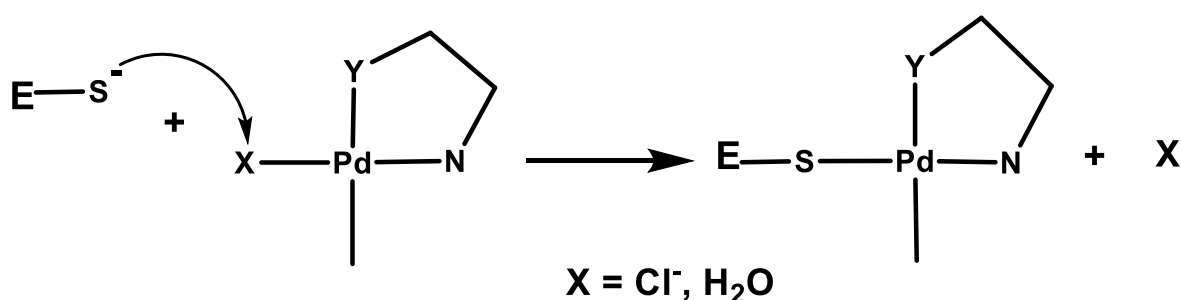


Figura 5. Interação proposta entre o fragmento organopaladado e o resíduo Cys do sítio ativo da catepsina B.

Adaptado do (JOHN SPENCER ET AL, 2009).

Um aspecto importante do mecanismo de ação de compostos de Pd (II) envolve a sua habilidade de interferir na atividade catalítica de enzimas lisossomais do tipo cisteíno-proteases (SIMON P. FRICKER, 2010).

1.3 Topoisomerases

1.3.1) Aspectos Gerais das Topoisomerases

A divisão celular é o mecanismo que ocorre em todos seres vivos, a falha em uma das etapas do processo de divisão celular, pode ocorrer processos fisiológicos que pode desencadear o processo cancerígeno (JAMASBI et al., 2022; JUDASZ et al., 2022; LÓPEZ-LÁZARO, 2018; UMBREIT et al., 2020), no entanto, algumas enzimas estão associadas para que esse processo de falha de divisão celular não aconteça (SIVAGANESH et al., 2021). As topoisomerases são uma classe de enzima que são responsáveis por manter a integridade genômica durante todo processo de replicação e transcrição do DNA, estão associadas no gerenciamento da estrutura do DNA, e desempenham a função de resolução dos problemas topológicos nas fitas de DNA (FEI YOU; CHANGSHOU GAO, 2019; HEVENER, 2018; JOYCE H. LEE; JAMES M. BERGER, 2019). Estas enzimas fazem uma clivagem seletiva, rearranjando e religando cadeias de DNA, fazendo um relaxamento que possa possibilitar a separação das fitas de DNA no processo de divisão celular (LEE; BERGER, 2019; SWAN; COWELL; AUSTIN, 2022; YASUDA et al., 2020). Porém este grupo de enzimas apresentam uma característica comum na sua atividade catalítica, em que consiste em um ataque nucleofílico à ligação fosfodiéster existente entre os nucleotídeos de uma fita de DNA, através de um resíduo catalítico de tirosina, que resulta em uma ligação covalente entre fosfato e a tirosina, como pode ser vista na **Figura 6** (KONDAKA; GABRIEL, 2022; NATASSJA BUSH G; KATHERINE EVANS-ROBERTS; ANTHONY MAXWELL, 2015; SELAS et al., 2021; WEI et al., 2005; ZAGNOLI-VIEIRA; CALDECOTT, 2020).

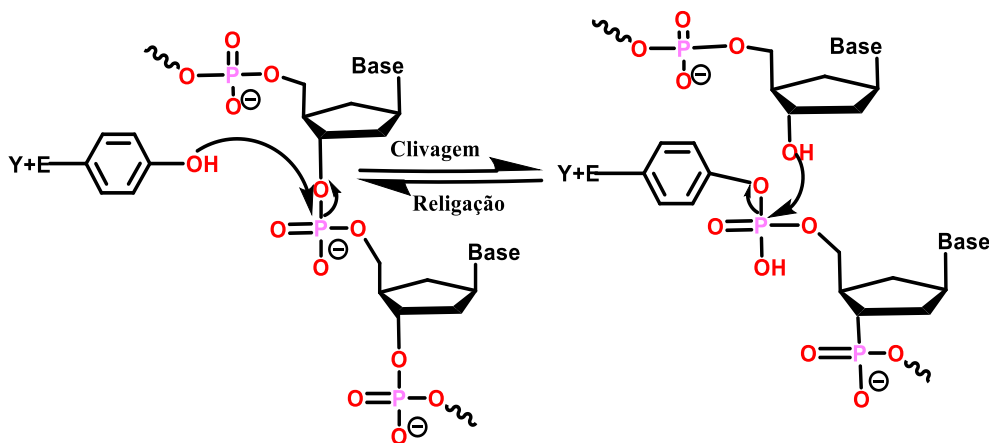


Figura 6. Representação do ataque nucleofílico da tirosina em uma fita do DNA.

Adaptado ao (FEI YOU; CHANGSHOU GAO, 2019).

Existem duas classes de topoisomerasas, essa classificação vai de acordo com as considerações estruturais, mecânicas e evolutivas. (NATASSJA BUSH G; KATHERINE EVANS-ROBERTS; ANTHONY MAXWELL, 2015). As Topoisomerasas tipo I desempenha a quebra de uma fita de DNA, e não usa o ATP para desempenhar a sua atividade. Por outro lado, temos a Topoisomerase II alfa, que realiza a quebra transitória da dupla fita do DNA e é dependente do fator de energia denominada ATP (Adenosina trifosfato (WEI et al., 2005). A cadeia lateral do resíduo de aminoácido K378, é conservado no sítio do ATP, e supõe-se que ao se ligar a estrutura do AMPPNP por uma ponte salina, ela estabiliza o estado de transição da reação de hidrólise, tornando assim essencial para o funcionamento da enzima (YVES POMMIER et al., 2016).

As topoisomerasas tipo II pode ser encontrado em duas isoformas, classificadas como as topoisomerasas II alfa e as topoisomerasas II beta, essa diferença associa-se ao facto delas serem expressas em diferentes fases do ciclo celular e em diferentes células. As topoisomerasas II alfa são encontradas exclusivamente nos tecidos de proliferação rápida enquanto as topoisomerasas II beta são encontradas em todos os tipos de células e são expressas constantemente durante toda etapa do ciclo celular (WEI et al., 2005).

O ciclo catalítico envolve dois seguimentos do DNA (nomeadamente G e T). o seguimento G (*gate* do inglês) é quebrado em ambas as fitas da dupla hélice pela formação de ligações covalentes da cadeia lateral do resíduo de tirosina e o fosfato 5' do DNA. O seguimento T (*transported* do inglês) é capturado por um movimento na região N terminal e passa através do domínio de clivagem até a região da saída de C terminal. No final a dupla hélice do seguimento G é religada (POMMIER, 2013; YVES POMMIER et al., 2016). Assim o ciclo catalítico termina dando o início a uma outra reação (JOAQUIM ROCA, 2009).

2. Planejamento de complexo de Cobre.

Em trabalho recente, desenvolvido no Laboratório de Química Medicinal, Síntese Orgânica e Modelagem Molecular (LaQMedSOMM), uma série de complexos de cobre II com geometria quadrático planar foram planejadas e triados *in silico* nos sítios do etoposídeo e do ATP da topoisomerase II alfa humana, enzima expressa em elevada quantidade em células tumorais (BUSH; EVANS-ROBERTS; MAXWELL, 2015; H TURLEY, 1997). A **(Figura 7)** ilustra uma representação geral dos 180 complexos de

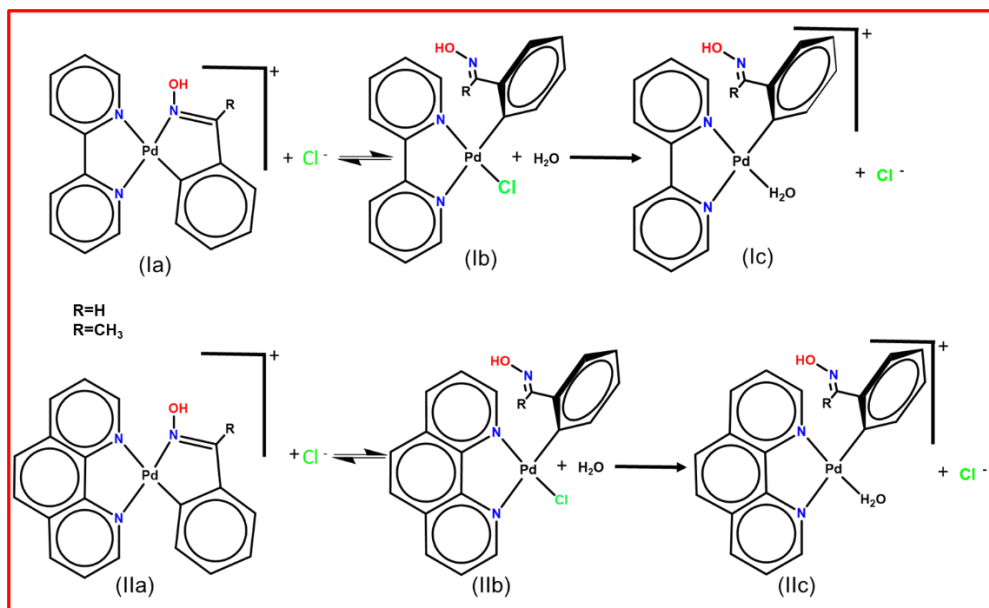


Figura 8. Representação dos 12 complexos de paládio obtidos no laboratório de química inorgânica.

3. OBJETIVOS.

3.1 Objetivo Geral.

- Realização de estudos computacionais de complexos de cobre e paládio (II), frente as catepsinas B e L, visando avaliar potencial atividade dual. Adicionalmente, 12 complexos de paládio também serão triados nos modelos previamente validados para a topoisomerase II alfa e em modelos validados das catepsinas B e L, com o mesmo objetivo.

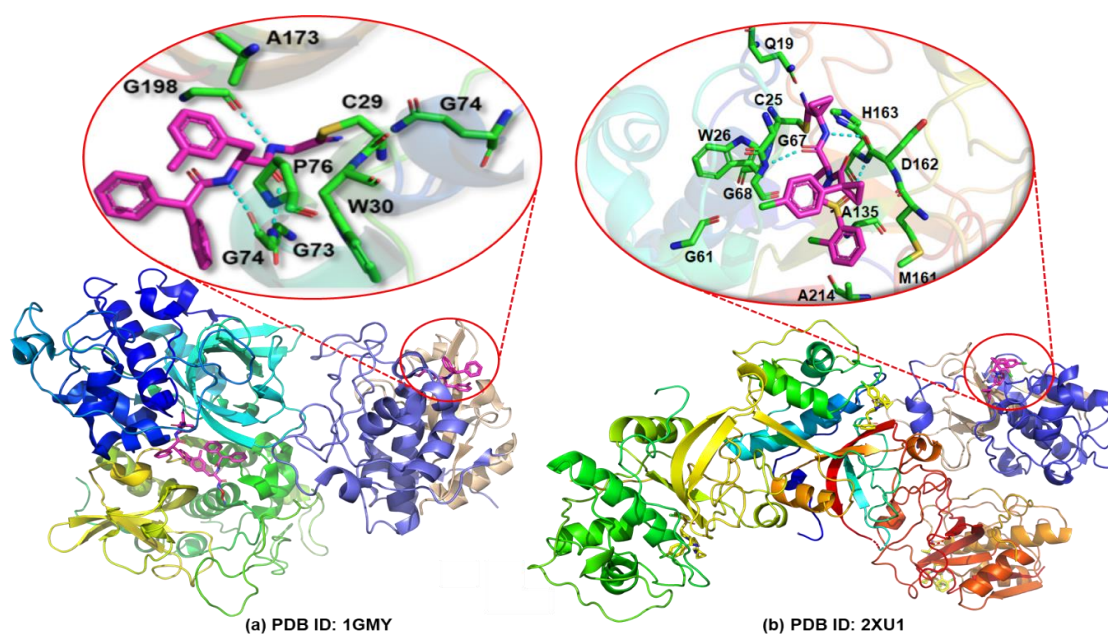
3.2 Objetivos Específicos

- Validar os modelos computacionais para as catepsinas B e L.
- Realizar estudos computacionais de complexos de cobre e paládio frente as enzimas de catepsina B e L, assim como para os sítios do etoposídeo e ATP.
- Avaliar potencial atividade dual dos complexos de cobre (II) assim como para os complexos de paládio (II) frente as enzimas da catepsina B e L assim para os sítios etoposídeo e ATP.

4. METODOLOGIA COMPUTACIONAL

Para explorar diversas variações estereoquímicas dos complexos de paládio e cobre (II), e como estas podem resultar em interações relevantes frente as enzimas (catepsinas B e L e as topoisomerases II Alfa), foi usado a ancoragem molecular (*docking*), uma ferramenta computacional usada na descoberta de fármacos (PHILLIPS et al., 2018). Realizou-se ancoragem molecular, a partir das estruturas cristalográficas da catepsinas B e L e topoisomerase II alfa. A catepsina B foi cocrystalizada com a dipeptidil nitrila **(1)** (PDB ID: 1GMY com uma resolução de 1.90 Å **Figura 9 (a)**), e catepsina L, foi co-cristalizada com **(2)** (2S,4R)-1-[1-(4-clorofenil)ciclopropil-carbonil-4-(2-clorofenil)sulfonil-N-[1-(iminometil)ciclopropil-pirrolidina-2-carboxamida, depositada no ChEMBL com ID 424 e com PDB: ID 2XU1 com uma resolução de 1.45 Å **Figura 9 (b)**.

Por outro lado, temos a enzima da topoisomerase II alfa co-cristalizadas com DNA e com etoposídeo (PDB ID: 5GWK, com a resolução de 3,152 Å, **Figura 9 (c)**) e pôr fim co-cristalizada com o ATP (PDB ID: 1ZXM, com uma resolução de 1,87 Å, **Figura 10 (d)**). Cabe destacar que as estruturas cristalográficas citadas foram obtidas na base de dados de PDB (“RCSB, 2022).



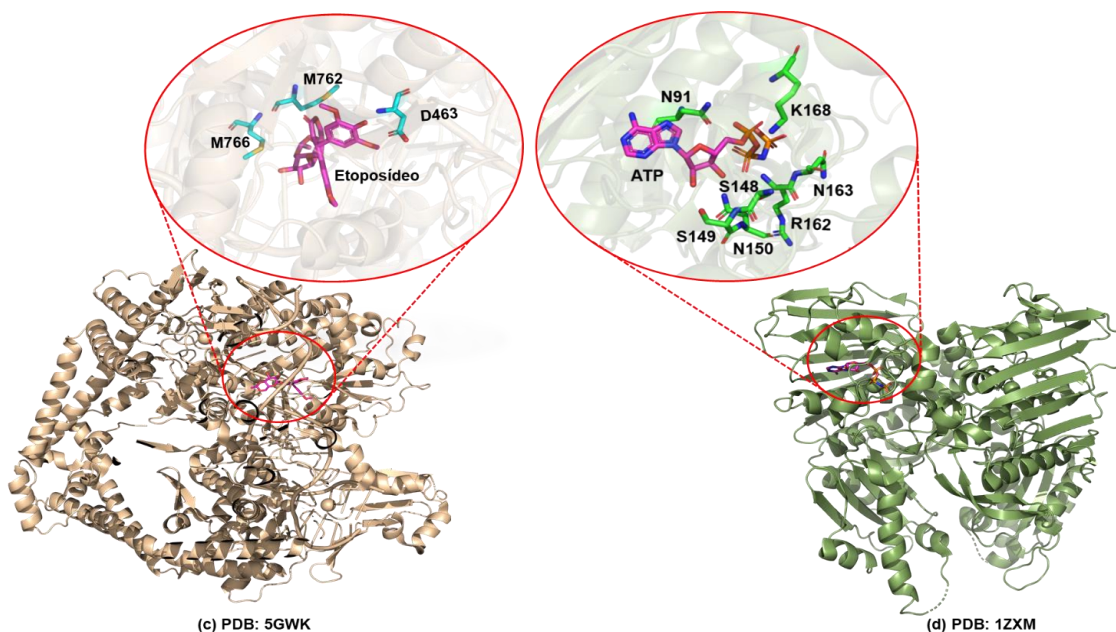


Figura 9. Estrutura cristalográfica das catepsinas B, L e TOPII α : **(a)** Catepsina B Co-cristalizada com dipeptidil nitrila (PDB: ID: 1GMY), **(b)** Catepsina L co-cristalizada com (2S,4R)-1-[1-(4-clorofenil)ciclopropil-carbonil-4-(2-clorofenil)sulfonil-N-[1-(iminometil)ciclopropil-pirrolidina-2-carboxamida], **(c)** co-cristalizada com o DNA e etoposídeo (PDB ID: 5GWK) e **(d)** co-cristalizada com o ATP (PDB ID: 1ZXM).

Foi usado o gráfico de Ramachandran para verificar os ângulos diédricos phi (φ) e psi (ψ) em ambas as estruturas das catepsinas B e L, sendo possível identificar os resíduos que se encontram nas regiões energeticamente permitidas e não permitidas e orientando a avaliação da qualidade das estruturas cristalográficas, obtidas experimentalmente (RAMACHANDRAN PLOT, 2018). Pela análise do gráfico de Ramachandran, o modelo da catepsina B co-cristalizada com dipeptidil nitrila (PDB ID:1GMY) apresentou 85,7% dos resíduos nas regiões favoráveis, 13,6% nas regiões permitidas, 0,5% nas regiões adicionalmente permitidas e nenhum residuo em regiões desfavoráveis **Anexo 4**. Do mesmo modo, foi analisado o gráfico de Ramachandran para Catepsina L co-cristalizada com substância de ChemBL 424 (PDB ID: 2XU1). Onde verificou-se 87,1% dos resíduos estão nas regiões favoráveis, 12,8% nas regiões permitidas, 0,1% nas regiões adicionalmente permitidas e nenhum residuo em regiões desfavoráveis **Anexo 3**.

Buscou-se na literatura 32 substâncias com estereoquímica definida e com atividade de inibição não covalente para o sítio ativo da catepsina B (**Anexo 8**) paralelamente, foram tiradas 68 substâncias com inibição não covalente no sítio ativo da

catepsina L (**Anexo 9**). Em seguida, as substâncias selecionadas foram agrupadas em escalas de valores de atividade (Ki) **Tabela 1**.

Tabela 1. Classificação dos valores de atividade (Ki) das substâncias obtidas na literatura.

Muito ativas	≤100 nM
Ativas	101 -1000 nM
Pouco ativas	1001-10000 nM
Inativas	>10000 nM

Para ancoragem molecular, foi usado o programa *GOLDSuite v.2021.2.0* (CCDC, 2021), utilizando as quatro funções de pontuação pré-definidas pelo programa, ChemPLP (*Piecewise Linear Potential*), ChemScore, ASP (*Astex Statistical Potential*) e GoldScore), na escolha da melhor função de pontuação, que se encaixe melhor em cada proteína (catepsina B e L). Assim sendo, a validação da metodologia e da função de pontuação, foi feita por meio da redocagem molecular usando as 4 funções do Gold. Este processo consiste na reprodução da geometria do ligante co-cristalizado associando com o ligante construído (modelado), com objetivo de reproduzir as mesmas e interações e encontrar um RMSD menor que 2 (MATEEV et al., 2021).

A construção dos 32 complexos (20 complexos de cobre **anexo 1** e 12 complexos de paládio **Anexo 2**) fez-se depois da validação da metodologia computacional. Os ligantes dos complexos foram construídos em 2D no programa *MarvinSketch v6.3*, (MARVINNSKECH, 2023) e foram verificados os seus estados de protonação em pH fisiológico (pH=7,4) com objetivo de identificar a espécie maioritária no organismo humano. Depois, seguiu-se com a construção em 3D usando o programa *Discovery Studio Visualiser v17.2* (BIOVIA, 2021). No final, foram submetidos os complexos nos cálculos semiempíricos usando o software MoPAC2016 (PM7) (MOPAC2016, 2022) utilizando a interface gráfica do programa *Mercury CCDC* (CCDC, 2021).

5. RESULTADOS OBTIDOS IN SÍLICO

5.1 Redocagem nas catepsinas B e L

Realizou-se a redocagem molecular para os ligantes co-cristalizados da catepsina B e L (AEM 500 e 424 C), com a finalidade de avaliar a capacidade preditiva do modelo *in silico* em relação à orientação espacial do ligante (RMSD, *Root Mean Square Deviation*), assim como as interações com resíduos de aminoácidos relevantes. Ao

carregar as proteínas com PDB ID 1GMV e 2XU1, fez-se a ancoragem molecular em modo rígido e o programa *GOLD* foi utilizado para a adição dos átomos de hidrogênio em ambas as estruturas. Extraíu-se o ligante co-cristalizado nas duas enzimas, na qual foi utilizado como ligante de referência (C para o AEM-500 e C para o 424); definido o raio de 15 Å para o ligante C_424 e 12 Å para C_AEM500 de modo a restringir o espaço amostral em ambos os sítios e usado 100 poses para cada função de pontuação. Assim, foi feita a validação da metodologia. As estruturas cristalograficas das proteínas foram retiradas na base de dados do PDB com os códigos PDB ID: 1GMV para a catepsina B e PDB ID: 2XU1 para catepsina L. Durante a análise dos resultados da redocagem molecular, para ambas as proteínas, foi possível verificar que foram reproduzidas 95% das interações em ambas as proteínas.

A função de pontuação que reproduziu melhor orientação do ligante, exibiu menores valores de RMSD e teve melhor reprodução das interações em ambas as enzimas, no entanto, mostrou algumas diferenças nos valores de RMSD em relação as 4 funções de pontuação. Entretanto, estes dados devem ser correlacionados com os resíduos envolvidos nas interações com o ligante da estrutura cristalográfica. Foi possível observar os valores obtidos da redocagem molecular de catepsina B co-cristalizada com dipeptidil nitrila na **Tabela 2**, onde estão apresentados os valores de RMSD de cada função de pontuação.

Tabela 2. Valores obtidos por redocagem molecular em cada função de pontuação do programa Gold da estrutura de enzima de catepsina B (PDB ID: 1GMV).

Função de pontuação	RMSD	Score
ChemPLP-RMSD	1,26	66,82
ChemPLP-Score	1,71	70,52
ASP-RMSD	1,95	38,07
ASP-Score	1,74	40,34
ChemScore-RMSD	1,70	29,48
ChemScore-Score	1,72	29,83
GoldScore-RMSD	1,63	63,29
GoldScore-Score	1,67	62,11

Assim sendo, foi escolhido o menor valor de RMSD e menor valor de função de pontuação. Portanto, a ChemPLP foi escolhida por apresentar o menor valor de RMSD e menor valor de pontuação para a catepsina B. Na **(Figura 10)** observar-se a pose obtida por meio da redocagem molecular, onde o ligante modelado é ilustrado com os átomos de carbono em rosa, por outro lado, o ligante co-cristalizado com os átomos de carbono em azul. Durante a redocagem molecular, foi possível reproduzir 95% de interações

previstas, onde verifica-se interações de hidrogênio clássica através da nitrila com a função amida do resíduo de Q23. A amina do resíduo de C29 realiza interação de hidrogênio clássica com a nitrila. A carbonila presente na substância realiza interação de hidrogênio clássica com a função amida do resíduo de G74. Verifica-se também interação de hidrogênio clássica através da amida da espinha dorsal da substância com a carbonila dos resíduos de G74 e G198 (GREENSPAN et al., 2001).

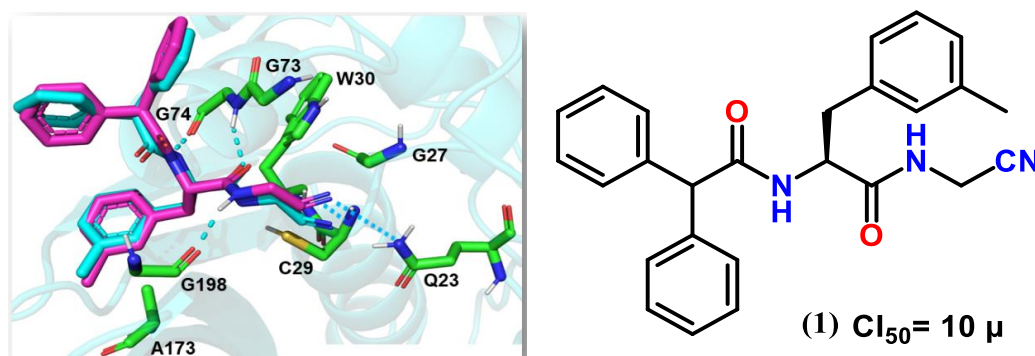


Figura 10. Redocagem da catepsina B co-cristalizada com dipeptidel nitrila (PDB ID:1GMY), interações de hidrogênio clássica estão representadas em preto.

De forma similar, foi realizada a redocagem para a catepsina L co-cristalizada com o ligante de referência C_424 (PDB ID: 2XU1). Na **Tabela 3**, observa-se valores obtidos por redocagem.

Tabela 3. Valores obtidos por redocagem molecular em cada função de pontuação do programa Gold da estrutura da enzima de catepsina L (PDB ID: 2XU1).

Função de pontuação	RMSD	Score
ChemPLP-RMSD	1,81	50,80
ChemPLP-Score	1,86	44,31
ASP-RMSD	1,50	13,55
ASP-Score	1,68	16,08
ChemScore-RMSD	1,31	12,22
ChemScore-Score	1,37	13,21
GoldScore-RMSD	0,92	35,03
GoldScore-Score	0,98	49,23

Para a pose do ligante C_424, obtida por redocagem molecular frente a enzima da catepsina L, foi escolhida a função pontuação de *Goldscore*, por apresentar o menor valor de RMSD e uma reprodução das interações dos resíduos de aminoácidos de 95%. Na **Figura 11**) é possível observar a pose obtida por meio da redocagem molecular, onde o ligante com átomos de carbono destacados em rosa faz referência ao ligante modelado, por outro lado, temos o ligante co-cristalizado destacado os átomos de carbono em azul.

Foi possível observar que ocorre interação de hidrogênio clássica a partir do grupo amida do resíduo de G68 com a carbonila da espinha dorsal do ligante, mesma interação ocorre entre a carbonila do resíduo de D162 com a o átomo de nitrogênio da espinha dorsal do ligante. Verifica-se interação de hidrogênio clássica através da amina do resíduo de C25 com a nitrila da substância complexada, o mesmo ocorre com a função amida do resíduo de Q19 (HARDEGGER et al., 2011).

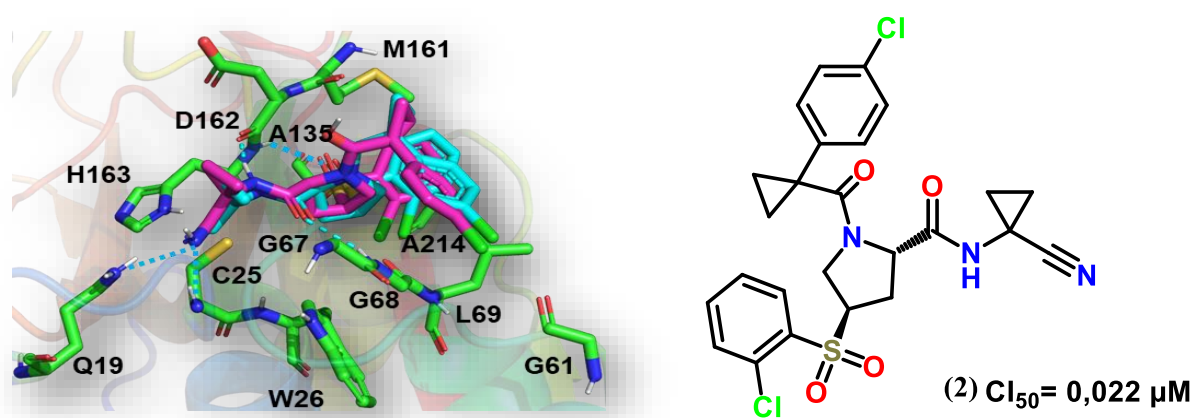


Figura 11. redocagem da catepsina L co-cristalizada com nitrila (PDB ID: 2XU1).

A validação da metodologia computacional para a enzima de topoisomerase II alfa, foi realizada num trabalho recente do nosso grupo de pesquisa pela doutoranda (MARCELLE ALCÂNTRA VIERA ROCHA, 2021), contudo, depois da validação da metodologia computacional para a enzima da catepsina B e L, seguiu-se com a ancoragem molecular das 32 substâncias (20 de cobre II e 12 de paládio II) **Anexo 1-2**.

Feito a ancoragem molecular, foi realizada a análise criteriosa da orientação das moléculas construídas no sítio ativo dos receptores e análise sistemática dos resíduos de aminoácidos com os quais estas moléculas interagem nas simulações computacionais. Para análise das interações dos resultados obtidos, foram usados os programas *PyMol* e o *Discovery Studio* (BIOVIA, 2021), sendo que as figuras das poses foram feitas pelo programa *PyMol* (PYMOL, 2021).

5.2 Resultados da ancoragem molecular da catepsina B complexada com a dipeptidel nitrila derivados de complexo de paládio II.








Realizou-se a análise das interações dos resíduos de aminoácidos através do ranqueamento dos valores de pontuação gerados por meio da ancoragem molecular. Depois do ranqueamento, foram obtidas as poses de complexos (cobre e paládio II) gerados em cada função de pontuação *ChemPLP* para (catepsina B e para as

topoisomerasas II alfa) enquanto *GoldScore* para (catepsina L). Em seguida, foram escolhidas as 20 melhores 20 poses de complexo de cobre II previamente triados nos sítios da topo II e 12 complexos de paládio que apresentaram atividade frente as catepsinas B e L. Para estes, foi realizada a análise criteriosa das interações que estão ilustradas na **Tabela 4**. Cabe destacar, que as figuras e as tabelas mostradas nesse trabalho foram feitas pelo próprio autor.

Tabela 4. Interação dos complexos de paládio II com os resíduos de aminoácidos da catepsina B (PDB ID: 1GMY).

Ligante	ChemPLP	No. de Interações	A173	G73-G74	W30	G198	Q23	G74	C29	G27	F174-S175
1gmy											
bipy_CH3_Cl	47,08	4									
bipy_H_H2O	45,27	3									
fen_H_H2O	46,21	3									
fen_H	43,16	2									
fen_CH3	43,86	2									
bipy_CH3	42,07	1									
bipy_H	40,45	1									
bipy_H_Cl	49,14	1									
fen_H_Cl	57,00	1									
fen_CH3_Cl	58,47	1									
bipy_CH3_H2O	47,67	1									
fen_CH3_H2O	55,18	1									

Ligante	ChemPLP	No. de Interações	A200	H199	H111	M196	C119	V176	Y75	E122	E245	W221
1gmy												
bipy_CH3_Cl	47,08	4										
bipy_H_H2O	45,27	3										
fen_H_H2O	46,21	3										
fen_H	43,16	2										
fen_CH3	43,86	2										
bipy_CH3	42,07	1										
bipy_H	40,45	1										
bipy_H_Cl	49,14	1										
fen_H_Cl	57,00	1										
fen_CH3_Cl	58,47	1										
bipy_CH3_H2O	47,67	1										
fen_CH3_H2O	55,18	1										

	Ligação de hidrogénio clássica.		Ligação (π - enxofre)		Hidrofóbica (empilhamento π)
	Ligação de hidrogénio não clássica.		Hidrofóbica (Sigma- π)		Hidrofóbica (π -alquila, alquila-alquila)
	Ligação electrostática				

Fonte: próprio autor

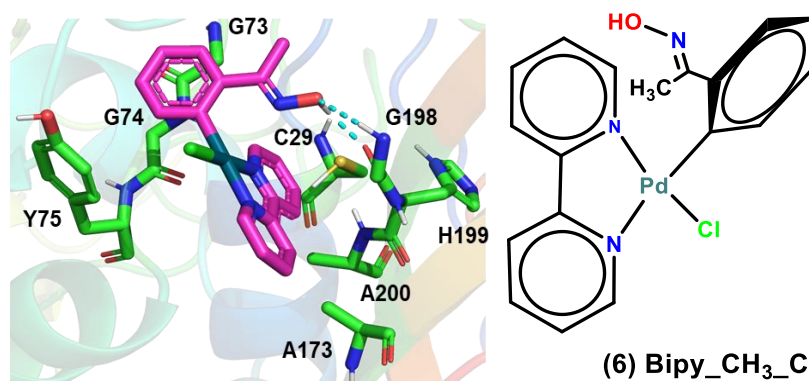


Figura 12. Interação do complexo de Paládio Bipy_CH₃_Cl (**6**) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

Com base no resultado ilustrado na (**Figura 12**), pode-se observar interação de hidrogênio clássica através da hidroxila substituída do ligante benzaldoxima com a carbonila e com a amina do resíduo de G198. O anel aromático pertencente a benzaldoxima, realiza interação hidrofóbica do tipo empilhamento amida- π com o resíduo de G74 e Y75. Os anéis aromáticos pertencente a subunidade da biperidina realiza interação do tipo π -enxofre com o resíduo de C29. Ocorre interação hidrofóbica do tipo π -alquila através dos anéis aromáticos pertencentes ao ligante biperidina com o grupo alquila do resíduo de A200, a mesma interação verifica-se com o resíduo de A173. Finalmente, observou-se interação hidrofóbica do tipo empilhamento amida- π a partir das subunidades de biperidina com o resíduo de G198 e H199.

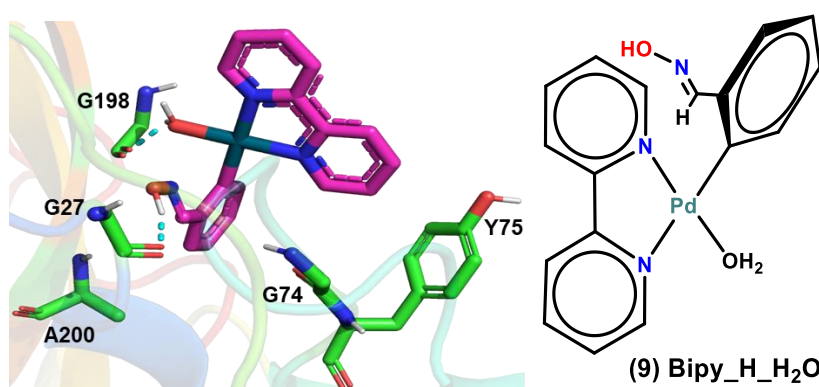


Figura 13. Interação do complexo de Paládio Bipy_H_H₂O (**9**) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio clássica estão representadas em azul.

Na (**Figura 13**), ocorre interação de hidrogênio clássica através da hidroxila pertencente ao ligante benzaldoxima com a carbonila do resíduo de G27. A molécula de água substituída do ligante, realiza interação de hidrogênio clássica com a carbonila do resíduo de G198. Ocorre interação de hidrogênio não clássica através da subunidade do anel aromático substituído da biperidina com a carbonila do resíduo de G74. A subunidade

do ligante biperidina realiza interação hidrofóbica do tipo sigma- π com o anel aromático pertencente ao resíduo de Y75. A cadeia lateral do resíduo de A200, faz interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do anel aromático pertencente a benzaldoxima.

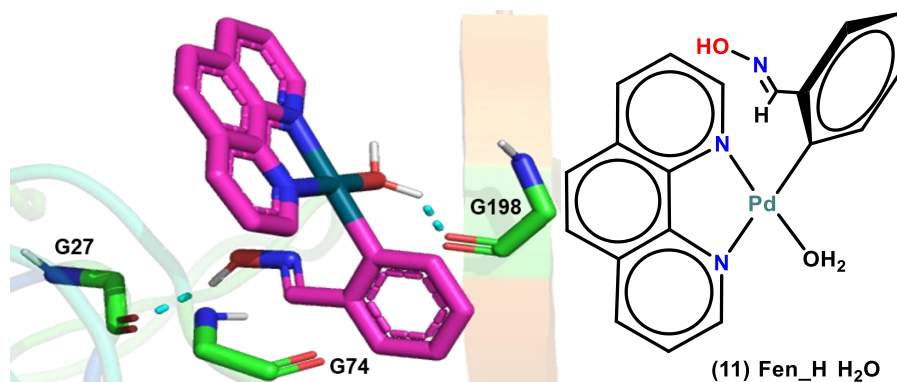


Figura 14. Interação do complexo de Paládio Fen_H_H₂O (**11**) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio clássica estão representadas em azul.

Os resultados ilustrados na (**Figura 14**), mostra interação de hidrogênio clássica através da molécula da água substituída do complexo com a carbonila do resíduo de G198. A hidroxila pertencente ao ligante benzaldoxima, realiza interação de hidrogênio clássica com o a carbonila do resíduo de G27. Ocorre interação de hidrogênio não clássica através do átomo de hidrogênio pertencente a anel aromático da fenantrolina com a carbonila do resíduo de G74.

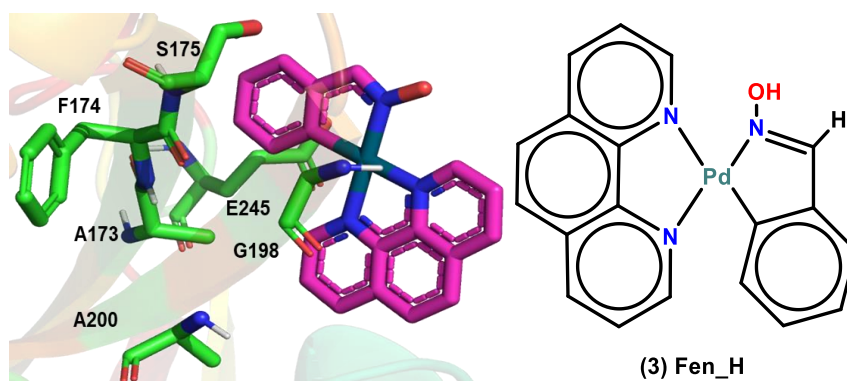


Figura 15. Interação do complexo de Paládio Fen_H (**3**) com os resíduos de aminoácidos.

Os anéis aromáticos pertencentes a fenantrolina realiza interação de hidrogênio não clássica do tipo π doador com a função amina do resíduo de G198 como vista na (**Figura 15**). As cadeias laterais de resíduos de A173 e A200, fazem interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do anel aromático pertencente a fenantrolina. Verificou-se interação hidrofóbica do tipo empilhamento amida- π , através do anel de aromático

pertencente ao ligante 3-metil-2,4-dihidro-1*H*-isoindol-2-ol com o resíduo de F174 e S175. Ocorre interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do anel aromático de 3-metil-2,4-dihidro-1*H*-isoindol-2-ol com o grupo alquila do resíduo de A173. A hidroxila pertencente ao E245 realiza interação eletrostática do tipo anion- π através do anel de cinco membros pertencente a 3-metil-2,4-dihidro-1*H*-isoindol-2-ol.

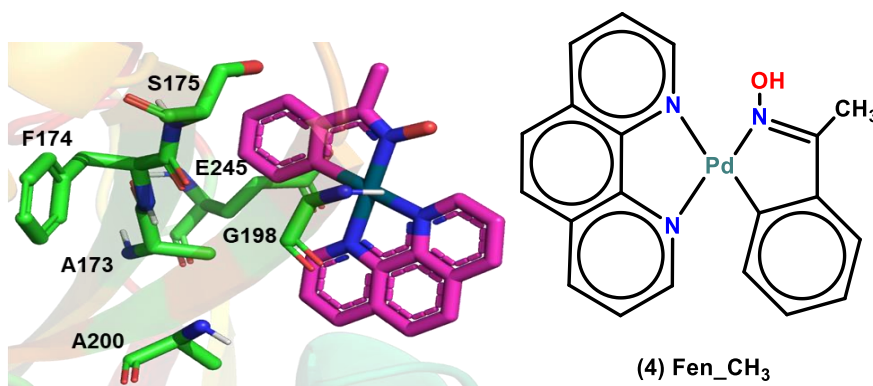


Figura 16. Interação do complexo de Paládio Fen_CH₃ (**4**) com os resíduos de aminoácidos.

Na (**Figura 16**), foi possível observar que os anéis aromáticos pertencentes a fenantrolina realizam interação de hidrogênio não clássica do tipo π doador com a função amina do resíduo de G198. As cadeias laterais de resíduos de A173 e A200, fazem interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do anel aromático pertencente a fenantrolina. Verificou-se interação hidrofóbica do tipo empilhamento amida- π , através do anel de aromático pertencente ao ligante 3-metil-2,4-dihidro-1*H*-isoindol-2-ol com o resíduo de F174 e S175. Ocorre interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do anel aromático de 3-metil-2,4-dihidro-1*H*-isoindol-2-ol com o grupo alquila do resíduo de A173. A hidroxila pertencente ao resíduo de E245 realiza interação eletrostática do tipo anion- π através do anel de cinco membros pertencente a 3-metil-2,4-dihidro-1*H*-isoindol-2-ol.

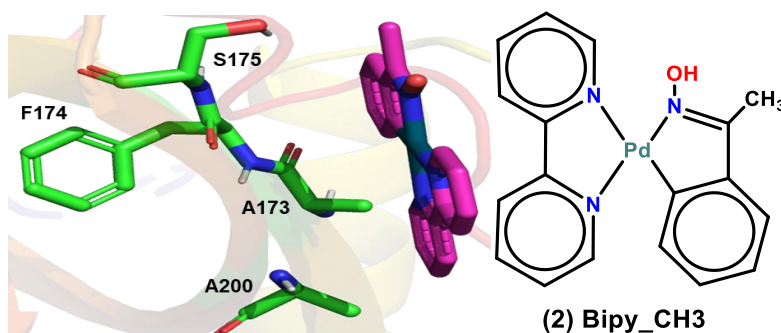


Figura 17. Interação do complexo de Paládio Bipy_CH₃ (**2**) com os resíduos de aminoácidos.

Ocorre interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do anel aromático pertencente a fenantrolina com o grupo alquila do resíduo de A173, com base no resultado apresentado na (

Figura 17) a mesma interação verifica-se com o resíduo de A200. Verificou-se interação hidrofóbica do tipo empilhamento amida- π , através do anel de aromático pertencente ao ligante 3-metil-2,4-dihidro-1H-isoindol-2-ol com o resíduo de F174 e S175. A cadeia lateral do resíduo de A173 realiza interação hidrofóbica do tipo π -alquila como o anel aromático de 3-metil-2,4-dihidro-1H-isoindol-2-ol.

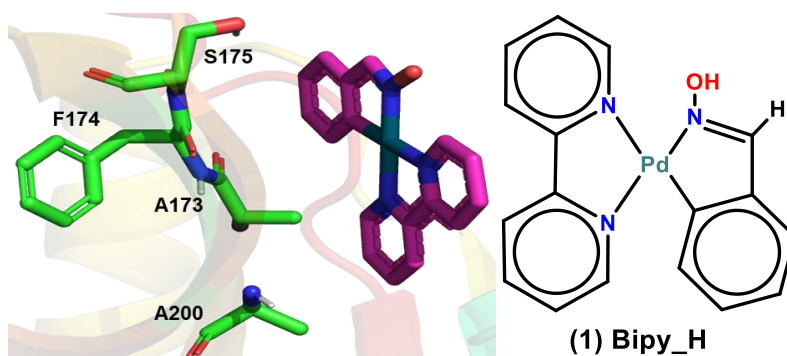


Figura 18. Interação do complexo de Paládio Bipy_H (1) com os resíduos de aminoácidos.

Ocorre interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do anel aromático pertencente a biperidina com o grupo alquila do resíduo de A173, com base no resultado apresentado na (**Figura 18**), a mesma interação verifica-se com o resíduo de A200. Verificou-se interação hidrofóbica do tipo empilhamento amida- π , através do anel de aromático pertencente ao ligante 3-metil-2,4-dihidro-1H-isoindol-2-ol com o resíduo de F174 e S175. A cadeia lateral do resíduo de A173 realiza interação hidrofóbica do tipo π -alquila como o anel aromático de 3-metil-2,4-dihidro-1H-isoindol-2-ol.

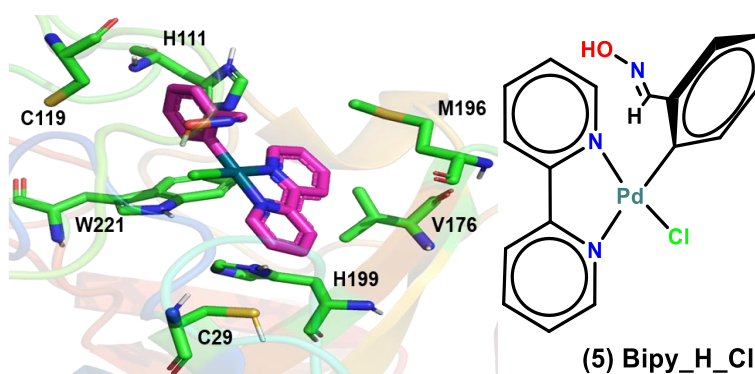


Figura 19. Interação do complexo de Paládio Bipy_H_Cl (5) com os resíduos de aminoácidos.

O resultado apresentado na **Figura 19** mostra uma interação hidrofóbica de tipo empilhamento π de anel de cinco membros pertencente ao resíduo de W221, com o anel aromático de benzaldoxima. O anel imidazólico do resíduo de H111 realiza interação hidrofóbica do tipo empilhamento T com o anel aromático da benzaldoxima. Ocorre interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do anel aromático pertencente a biperidina com o grupo alquila do resíduo de V176, o mesmo mecanismo, observou-se com o resíduo de M196. Ocorre interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do anel aromático pertencente a biperidina com o grupo alquila do resíduo de C29. Verifica-se interação hidrofóbica do tipo empilhamento π , através do anel aromático da biperidina com o anel imidazólico do resíduo do aminoácido de H199, o mesmo resíduo de aminoácido participa de uma ligação de hidrogênio não clássica do tipo π doador com o anel aromático do ligante biperidina.

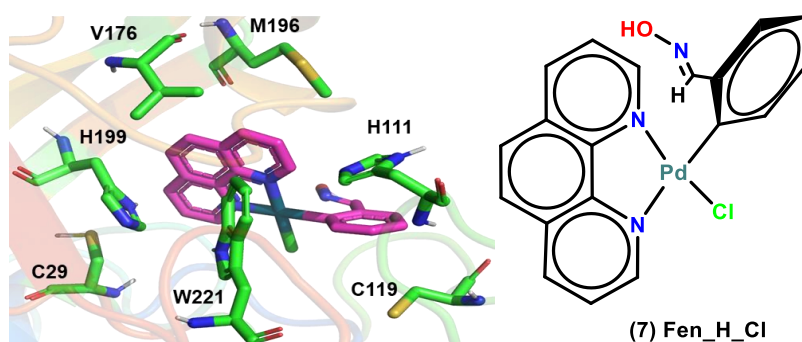


Figura 20. Interação do complexo de Paládio Fen_H_Cl (**7**) com os resíduos de aminoácidos.

Com base nos resultados da **Figura 20**, observa-se interação hidrofóbica de tipo empilhamento π de anel de cinco membros pertencente ao resíduo de W221, com o anel aromático de benzaldoxima. O anel imidazólico do resíduo de H111 realiza interação hidrofóbica do tipo empilhamento T com o anel aromático da benzaldoxima. Ocorre interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do anel aromático pertencente a fenantrolina com a cadeia lateral do resíduo de aminoácido de V176, a mesma interação verificou-se com o resíduo de aminoácido de M196. A cadeia lateral do resíduo de aminoácido de C29 faz interação hidrofóbica do tipo π -alquila com o anel aromático pertencente a fenantrolina. Verifica-se interação hidrofóbica do tipo empilhamento π , através do anel aromático da fenantrolina com o anel imidazólico do resíduo do aminoácido de H199, o mesmo resíduo de aminoácido, participa de uma ligação de hidrogênio não clássica do tipo π doador com o anel aromático do ligante fenantrolina. Finalmente, observou-se interação hidrofóbica tipo π -alquila, a partir do anel aromático da benzaldoxima com a cadeia lateral do resíduo de C119.

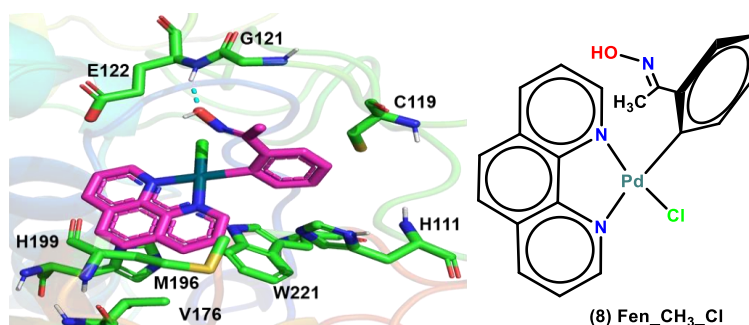


Figura 21. Interação do complexo de Paládio Fen_CH₃_Cl (**8**) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio clássica estão representadas em azul.

Na **Figura 21**, o anel imidazólico do resíduo de H111, realiza interação hidrofóbica do tipo empilhamento- π com o anel aromático da benzaldoxima. A hidroxila do ligante benzaldoxima, realiza interação de hidrogênio clássica com a amida do resíduo de E122, a mesma hidroxila realiza interação de hidrogênio não clássica com o grupo alquila do resíduo de G121. Verifica-se interação de hidrogênio não clássica, através do anel aromático da fenantrolina com o anel imidazólico do resíduo de aminoácido de H111. Observa-se interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do anel de aromático pertencente a fenantrolina com a cadeia lateral do resíduo de aminoácido de V176, a mesma interação verificou-se com o resíduo de aminoácido de M196. O anel de cinco membros pertencente ao resíduo de W221, realiza interação hidrofóbica de tipo empilhamento π com o anel aromático da fenantrolina. Ocorre interação hidrofóbica do tipo empilhamento π , através do anel aromático da fenantrolina com o anel imidazólico de H199. Finalmente, observou-se interação hidrofóbica tipo π -alquila, a partir do anel aromático da benzaldoxima com a cadeia lateral do resíduo de C119.

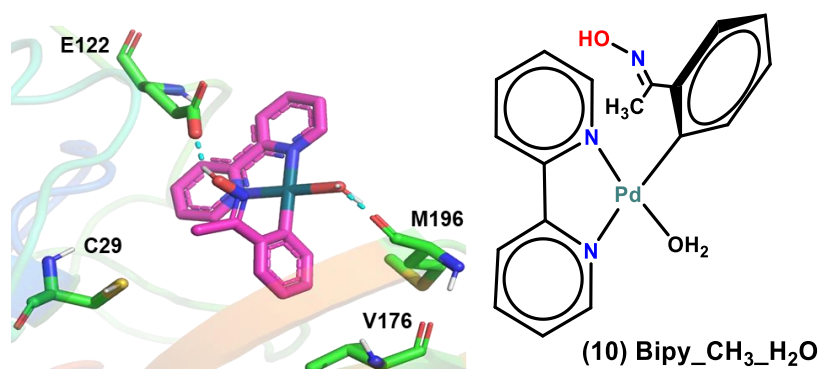


Figura 22. Interação do complexo de Paládio Bipy_CH₃_H₂O (**10**) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio clássica estão representadas em azul.

A molécula da água substituído do ligante ilustrada na **Figura 22**, realiza interação de hidrogênio clássica com a carbonila do resíduo de M196. Ocorre interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do anel aromático pertencente a benzaldoxima com

o grupo alquila do resíduo de V176. Verifica-se interação hidrofóbica do tipo alquila, através da metila substituída do ligante benzaldoxima com o grupo alquila do resíduo de C29. A hidroxila do ligante benzaldoxima, realiza interação de hidrogênio clássica com a amida do resíduo de E122. Observa-se interação eletrostática do tipo anion- π através dos anéis aromáticos pertencente a subunidade da biperidina com a hidroxila do resíduo do E122.

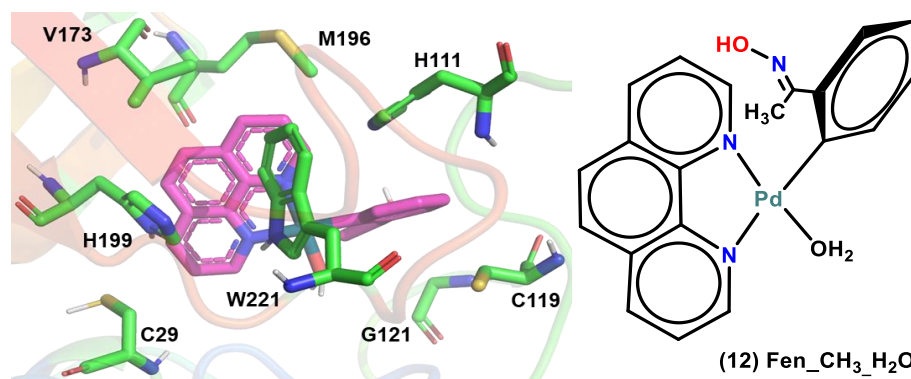


Figura 23. Interação do complexo de Paládio Fen_ $\text{CH}_3\text{-H}_2\text{O}$ (**12**) com os resíduos de aminoácidos.

A hidroxila do ligante benzaldoxima presente na **Figura 23**, realiza interação de hidrogênio não clássica com o grupo amina do resíduo de G121. Ocorre interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do anel aromático pertencente a benzaldoxima com o grupo alquila do resíduo de C29. O anel imidazólico do resíduo de H111, realiza interação hidrofóbica do tipo empilhamento- π com o anel aromático da benzaldoxima. Verifica-se interação de hidrogênio não clássica, através do anel aromático da fenantrolina com o anel imidazólico do resíduo de aminoácido de H111. Ocorre interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do anel aromático pertencente a fenantrolina com o grupo alquila do resíduo de M196. O anel de cinco membros pertencente ao resíduo de W221, realiza interação hidrofóbica de tipo empilhamento π com o anel aromático da fenantrolina. Ocorre interação hidrofóbica do tipo empilhamento π , através do anel aromático da fenantrolina com o anel imidazólico da H199. Finalmente, observou-se interação hidrofóbica tipo π -alquila, a partir do anel aromático da benzaldoxima com a cadeia lateral do resíduo de C119.

Com base nos resultados obtidos, foi possível observar subunidades estruturais que forneceram maior número de interações com os resíduos de aminoácidos no sítio ativo da catepsina B, sendo estas destacadas a seguir na **Figura 24**:

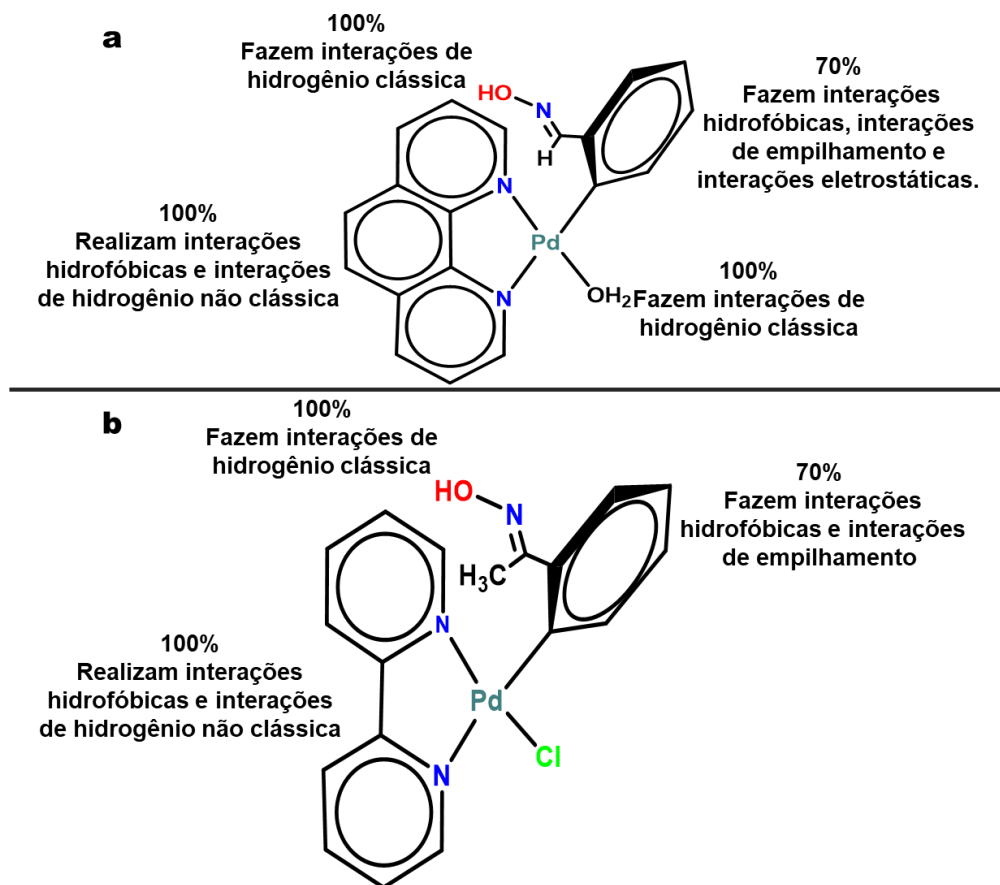


Figura 24. Padrões de substituintes que demonstraram maior número de interações.

Os complexos de paládio (II) contendo substituintes fenantrolina **(a)** e bipyridina **(b)**, os anéis aromáticos de ambos os complexos, apresentaram maior número de interações com os resíduos do sítio ativo, os anéis aromáticos da fenantrolina e de bipyridina, realizaram 100% interações hidrofóbicas, a hidroxila substituída representado em (vermelho) em ambos complexos, realiza 100 % interação de hidrogênio clássica, o anel aromático da benzaldoxima de ambos os complexos realizam 70% interação hidrofóbicas e a molécula de água realiza 100% interações de hidrogênio clássica. Tal padrão está relacionado com a presença do grupo doador e aceptor de ligação de hidrogênio, interações hidrofóbicas e eletrostáticas que os anéis aromáticos realizam, interações do tipo π -enxofre e interações de hidrogênio não clássica do tipo $\pi \cdots H-C$ com os orbitais π que acumulam concentrações de carga nos anéis aromáticos (FOKOUÉ et al., 2020; OLIVEIRA, 2016).

5.3) Resultados da ancoragem molecular da catepsina B complexada com a dipeptidil nitrila derivados de complexo de cobre II.







Realizou-se a análise das interações dos resíduos de aminoácidos através do ranqueamento dos valores de pontuação gerados por meio da ancoragem molecular. Depois do ranqueamento, foram obtidas as poses de complexos (cobre e paládio II)

gerados pela função pontuação ChemPLP. Em seguida, foram escolhidas as 20 melhores poses do complexo de cobre e 12 complexos de paládio que apresentaram maior número de interações com os resíduos do sítio ativo, assim como os que apresentaram maiores valores de pontuação na catepsina B. Para este, foi realizada a análise criteriosa das interações de complexos de cobre II no sítio ativo da catepsina B, onde os resultados estão representados na **Tabela 5**.

Tabela 5. Interação de complexos de cobre, que apresentaram melhores interações no sítio do ATP frente aos resíduos de aminoácidos da catepsina B (PDB ID: 1GMY).

Ligante	ChemPLP	Nº de Interações	A173	G74	G73-G74	G198	Q23	W30	C29	M195	E122
1gmy											
1E_2A_3D_4A	65,22	4									
1E_2B_3C_4C	72,08	4									
1A_2A_3C_4C	63,02	3									
1D_2A_3A_4C	74,21	3									
1D_2A_3D_4A	64,90	2									
1E_2B_3D_4C	74,51	2									
1E_2A_3C_4B	79,74	2									
1B_2A_3A_4C	74,51	2									
1A_2A_3D_4A	63,30	1									

Ligante	ChemPLP	Nº de Intarações	A200	P76	N72	G198-H199	V176	G73	G197	Y75	H199	M196
1gmy												
1E_2A_3D_4A	65,22	4										
1E_2B_3C_4C	72,08	3										
1A_2A_3C_4C	63,02	3										
1D_2A_3A_4C	74,21	3										
1D_2A_3D_4A	64,90	2										
1E_2B_3D_4C	74,51	2										
1E_2A_3C_4B	79,74	2										
1B_2A_3A_4C	74,51	2										
1A_2A_3D_4A	63,30	1										

 Ligação de hidrogênio clássica.	 Ligação electrostática	 Hidrofóbica (empilhamento π)
 Ligação de hidrogênio não clássica.	 Ligação (π - enxofre)	 Hidrofóbica (π -alquila, alquila-alquila)

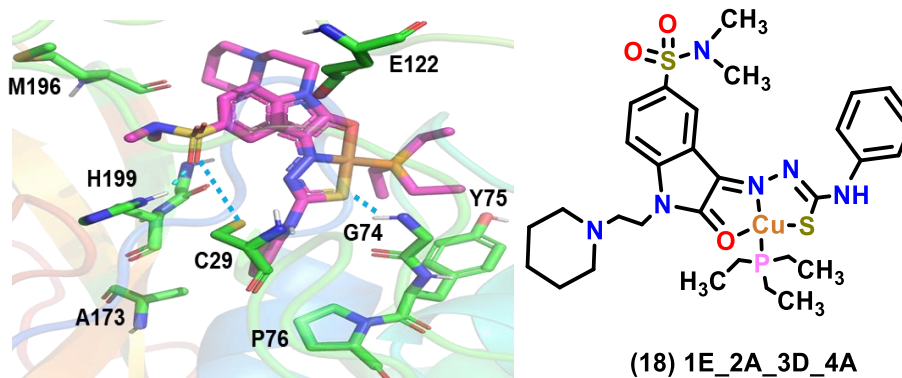


Figura 25. Interação do complexo de cobre 1E_2A_3D_4A (**18**) com os resíduos de aminoácidos da catepsina B (PDB:1GMV). Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

Com base nos resultados mostrado na **Figura 25**, mostrou uma interação de hidrogênio clássica através da carbonila da subunidade sulfonamida com o anel imidazólico da H199, a mesma interação verifica-se com o grupo tiol do resíduo de C29. A carbonila do resíduo de M196 faz interação de hidrogênio não clássica através da amida pertencente a subunidade sulfonamida. Verifica-se interação eletrostática do tipo anión- π através do anel de cinco membros pertencente a isatina com o grupo hidroxila do resíduo do E122. Observa-se interação hidrofóbica do tipo π -alquila através da trietilfosfina pertencente ao ligante com o anel aromático do resíduo de Y75. A anilina substituída da tiossemicarbazona, faz interação hidrofóbica do tipo π -alquila com a cadeia lateral do resíduo de aminoácido de A173, a mesma interação observou-se com o resíduo de P76. O enxofre da tiossemicarbazona realiza interação de hidrogênio clássica com a amina do resíduo de G74.

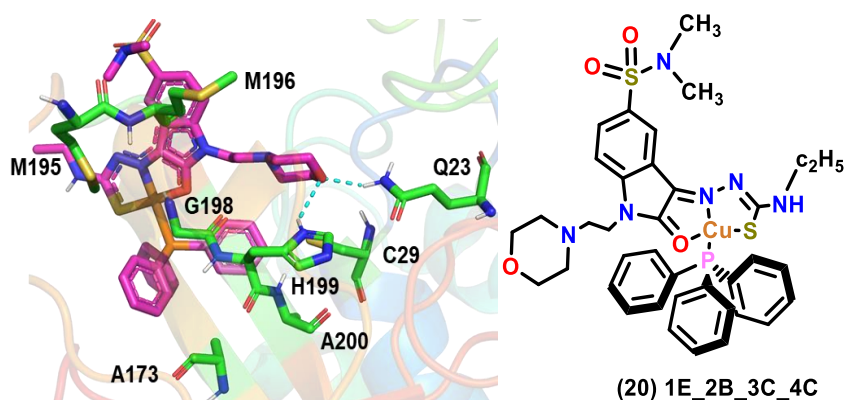


Figura 26. Interação do complexo de cobre 1E_2B_3C_4C (**20**) com os resíduos de aminoácidos da catepsina B (PDB:1GMV). Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

Através dos resultados observados na **Figura 26**, pode-se observar interação de hidrogênio não clássica através da amida da subunidade sulfonamida com a carbonila dos resíduos de M196 e M195. As cadeias laterais dos resíduos de A173 e A200 realizam interação hidrofóbica do tipo π -alquila com os anéis aromáticos pertencentes a trifenilfosfina. Ocorre interação de hidrogênio clássica através da subunidade da morfolina com o anel imidazólico do resíduo de H199. A amida do resíduo de Q23, realiza interação de hidrogênio clássica com o oxigênio pertencente a morfolina. Verifica-se interação hidrofóbica tipo empilhamento amida- π a partir da trifenilfosfina com o resíduo de G198 e H199. A cadeia lateral dos resíduos de aminoácidos de C29 e H199 fazem interação hidrofóbica tipo alquila com a subunidade da morfolina.

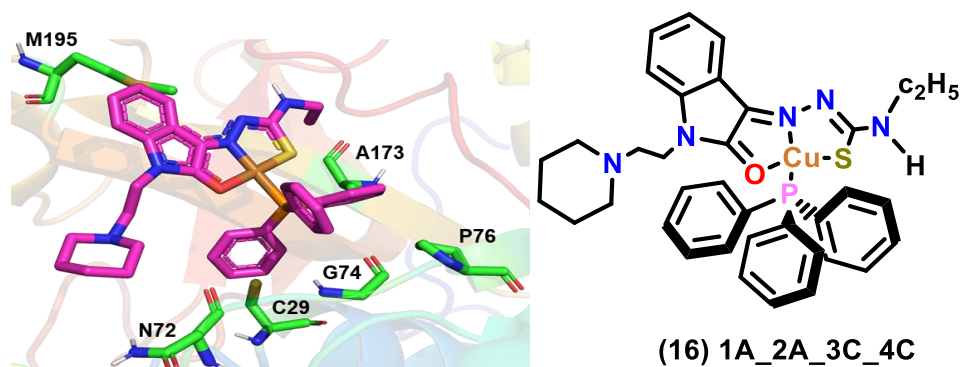


Figura 27. Interação do complexo de cobre 1A_2A_3C_4C (**16**) com os resíduos de aminoácidos da catepsina B (PDB:1GMV).

Na **Figura 27**, verifica-se interação hidrofóbica do tipo π -alquila, através do anel aromático da isatina com a cadeia lateral do resíduo de aminoácido de M195. Os anéis aromáticos da trifenilfosfina realizam interação hidrofóbicas do tipo π -alquila com a cadeia lateral dos resíduos de aminoácidos de A173 e P76. Ocorre interação de hidrogênio não clássica do tipo π -doador através da trifenilfosfina com a amina do resíduo de G74. A subunidade da piperidina substituída do ligante, realiza interação de hidrogênio não clássica com a carbonila do resíduo de N72. A cadeia lateral do resíduo de aminoácido de C29 realiza interação hidrofóbica do tipo π -alquila com o anel aromático da trifenilfosfina.

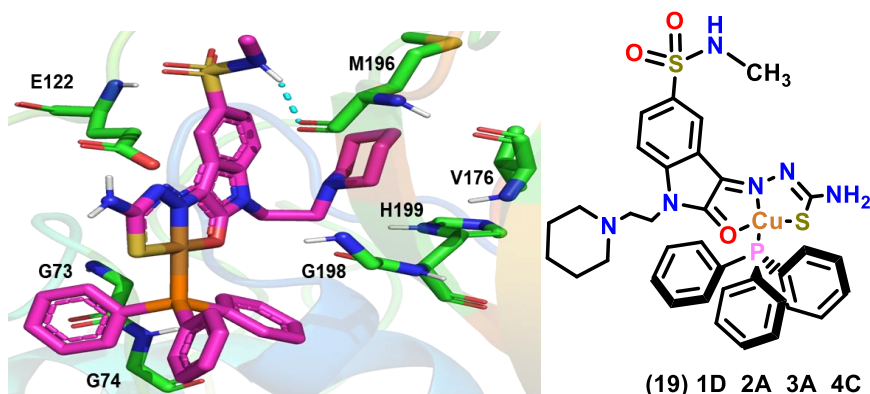


Figura 28. Interação do complexo de cobre 1D_2A_3A_4C (**19**) com os resíduos de aminoácidos da catepsina B (PDB:1GMV). Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

Ocorre interação de hidrogênio clássica através da amida pertencente a sulfonamida com a carbonila do resíduo de M196 como ilustrado na **Figura 28**. Verificou-se interação eletrostática do tipo anion- π através do anel de cinco membros pertencente a isatina com o grupo hidroxila do resíduo do E122. Observa-se interação de hidrogênio não clássica do tipo π -doador através da trifenilfosfina substituído do ligante com a função amina do resíduo de G74. A trifenilfosfina realiza interação hidrofóbica do tipo empilhamento amida- π com o resíduo de G73 e G74. Observou-se interação hidrofóbica do tipo alquila através da piperidina substituída do complexo com o grupo alquila do resíduo de V176. Verifica-se interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do anel imidazólico pertencente ao resíduo de H199 com a piperidina pertencente ao ligante. A subunidade alquila da piperidina substituída realiza interação de hidrogênio não clássica com a carbonila do resíduo de G198.

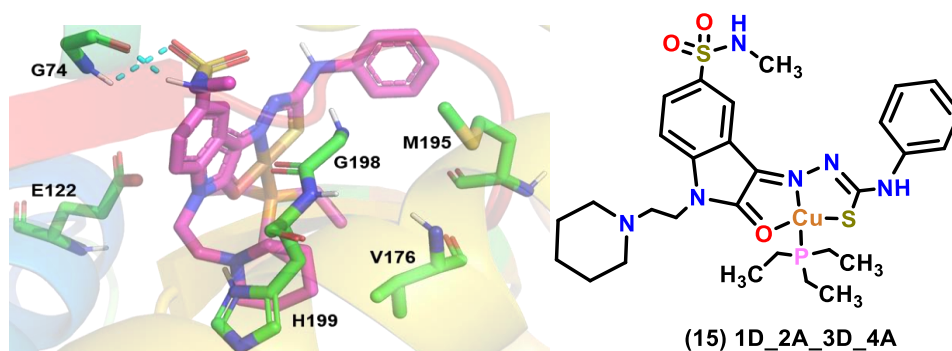


Figura 29. Interação do complexo de cobre 1D_2A_3D_4A (**15**) com os resíduos de aminoácidos da catepsina B (PDB:1GMV). Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

A amida da subunidade sulfonamida mostrada na **Figura 29**, realiza interação de hidrogênio clássica com a carbonila do resíduo de G74, a mesma interação acontece

a partir do oxigênio da subunidade sulfonamida com a amina do resíduo de G74. Ocorre interação hidrofóbica do tipo alquila através da piperidina substituída do complexo com o grupo alquila do resíduo de V176. Verifica-se interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do anel imidazólico pertencente ao resíduo de H199 com a piperidina pertencente ao complexo. A subunidade alquila da piperidina realiza interação de hidrogênio não clássica com a carbonila do resíduo de G198. Observa-se interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do anel aromático substituído da tiossemicarbazona com a cadeia lateral do resíduo de aminoácido de M195. Verificou-se interação eletrostática do tipo anión- π através do anel de cinco membros pertencente a isatina com o grupo hidroxila do resíduo do E122

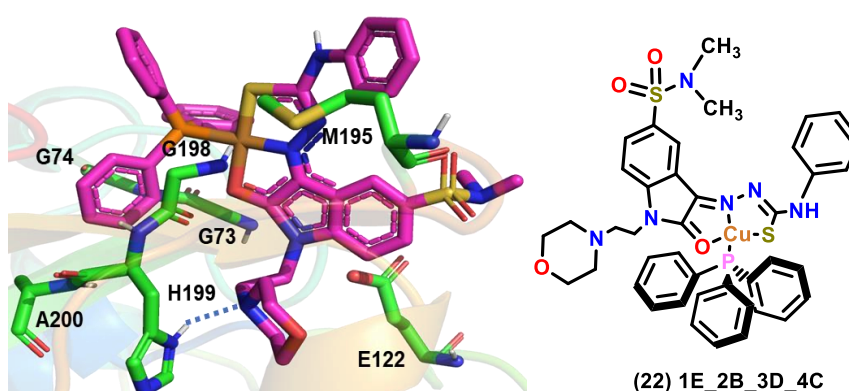


Figura 30. Interação do complexo de cobre 1E_2B_3D_4C (**22**) com os resíduos de aminoácidos da catepsina B (PDB:1GMV). Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

No resultado apresentado na **Figura 30**, observou-se interação de hidrogênio clássica com o anel imidazólico do resíduo de aminoácido de H199. Verifica-se interação de hidrogênio não clássica através da alquila substituída da subunidade da morfolina com a hidroxila do resíduo de E122 e com carbonila do resíduo de G198. O anel imidazólico da H199, realiza interação hidrofóbica do tipo alquila com a subunidade alquila da morfolina pertencente ao ligante. Ocorre interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do anel aromático substituído da tiossemicarbazona com a cadeia lateral do resíduo de aminoácido de M195. Verifica-se interação hidrofóbica do tipo empilhamento amida- π através do trifenilfosfina com os resíduos de G73 e G74, a mesma interação ocorre com a G198 e H199. A cadeia lateral do resíduo de A200 realizam interação hidrofóbica do tipo π -alquila com o anel aromático pertencente a trifenilfosfina.

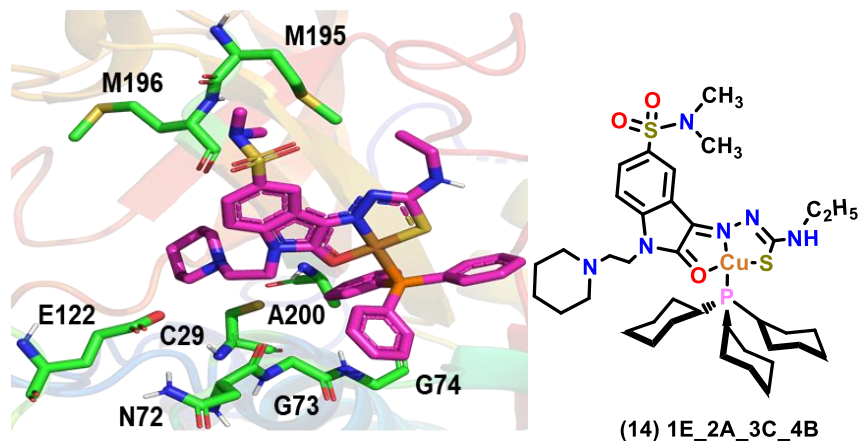


Figura 31. Interação do complexo de cobre 1E_2A_3C_4B (**14**) com os resíduos de aminoácidos da catepsina B (PDB:1GMV).

Os anéis aromáticos da trifenilfosfina representado na **Figura 31**, realiza interação hidrofóbica do tipo π -alquila com o resíduo de aminoácido de A200. Verifica-se interação hidrofóbica do tipo empilhamento amida- π através do trifenilfosfina com o resíduo de G73-G74. Observa-se interação de hidrogênio não clássica através da alquila substituída da subunidade piperidina com a hidroxila do resíduo de E122, a mesma interação, ocorre com a carbonila do resíduo de N72-M196. Acontece interação do tipo π -enxofre a partir da trifenilfosfina com o resíduo de C29. Ocorre interação hidrofóbica tipo alquila através da etila substituída da tiossemicarbazona com o grupo alquila do resíduo de M195.

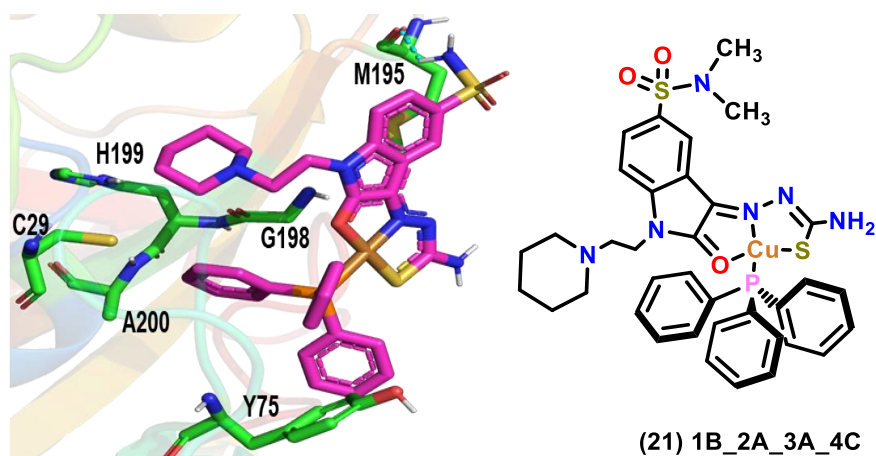


Figura 32. Interação do complexo de cobre 1B_2A_3A_4C (**21**) com os resíduos de aminoácidos da catepsina B (PDB:1GMV). Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

Nos resultados apresentados na **Figura 32**, observa-se interação hidrofóbica do tipo empilhamento- π , através do trifenilfosfina com o resíduo de aminoácido de Y75. Verifica-se interação do tipo π -enxofre através do trifenilfosfina com o resíduo de

aminoácido de C29. A trifenilfosfina realiza interação hidrofóbica do tipo π -alquila com a cadeia lateral do resíduo de aminoácido de A200. Ocorre interação hidrofóbica do tipo empilhamento amida- π através do trifenilfosfina com o resíduo de G198-H199. A subunidade piperidina realiza interação de hidrogênio não clássica com a carbonila do resíduo de G198. Observa-se interação de hidrogênio não clássico tipo π -doador através do anel de cinco membros pertencente a isatina com a função amina do resíduo de G198. A amida da subunidade sulfonamida, realiza interação de hidrogênio clássica com a carbonila do resíduo de M195.

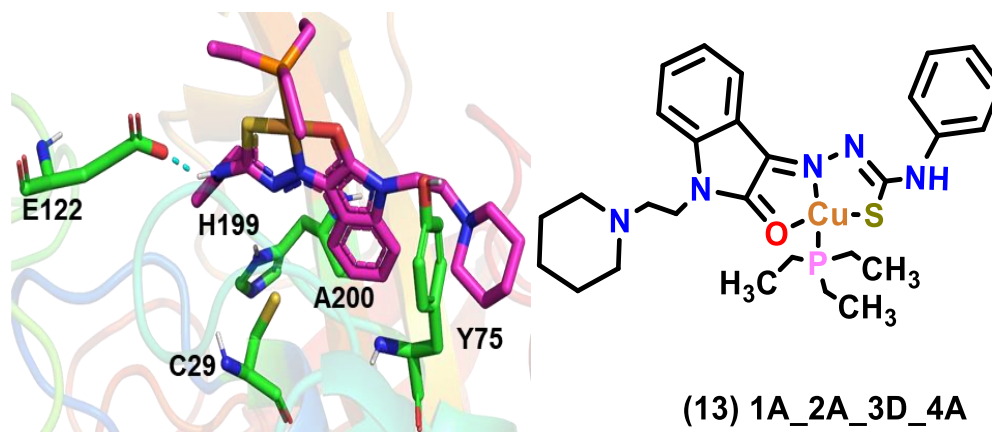


Figura 33. Interação do complexo de cobre 1A_2A_3D_4A (13) com os resíduos de aminoácidos da catepsina B (PDB:1GMV). Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

A amina da tiossemicarbazona mostrada na **Figura 33**, realiza interação de hidrogênio clássica com a hidroxila do resíduo de E122. A anilina substituída da tiossemicarbazona, realiza interação hidrofóbica do tipo empilhamento π com o anel imidazólico do resíduo de H199. Ocorre interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do anel aromático da isatina com a cadeia lateral do resíduo de aminoácido de A200. O enxofre pertencente ao resíduo de C29, realiza interação do tipo π -enxofre com o anel de cinco membros da isatina. Observa-se interação hidrofóbica do tipo π -alquila através da piperidina com o resíduo de aminoácido de Y75.

Com base nos resultados obtidos através da ancoragem molecular dos complexos de cobre II no sítio ativo da catepsina B, foi possível observar subunidades estruturais do complexo de cobre II que forneceram maior número de interações com os resíduos de aminoácidos no sítio ativo, sendo estas destacadas a seguir na **Figura 34**:

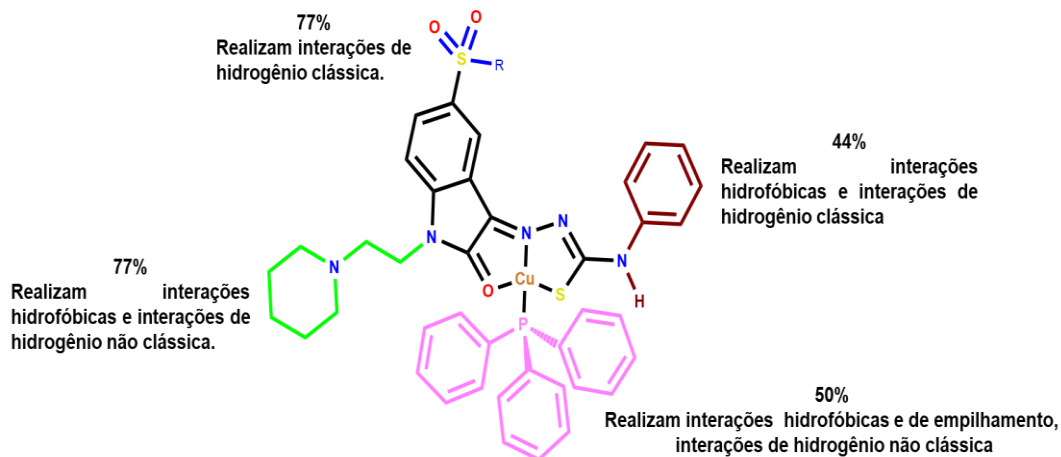


Figura 34. Padrões de substituintes do complexo de cobre II que foram triados no sítio de ATP, e que demonstraram maior número de interações no sítio ativo da catepsina B.

Os padrões de substituintes de complexo de cobre II que apresentaram maior número de interações com o sítio ativo do ATP, no sítio ativo da catepsina B, os padrões que apresentaram interações com os resíduos do sítio ativo contêm como substituintes: 77% a sulfonas (azul), 44% a amina substituída com anel aromático (marrom), 77% a piperidina (verde) e 50% a trifenilfosfina (pink). Este padrão, está relacionado com a presença do grupo doador e aceptor de ligação de hidrogênio, interações hidrofóbicas do tipo de empilhamento- π que os anéis aromáticos realizam, interações do tipo π -enxofre e interações de hidrogênio não clássica do tipo $\pi \cdots H-C$ com os orbitais π que acumulam concentrações de carga nos anéis aromáticos e ainda, a presença do substituinte N-heterocíclico possibilitou interação hidrofóbica do tipo π -alquila (FOKOUÉ et al., 2020; OLIVEIRA, 2016).







5.4 Resultados da ancoragem molecular da catepsina B complexada com a dipeptidil nitrila derivados de complexo de cobre II que se encaixaram bem no sítio ativo do etoposídeo.

Realizou-se a análise das interações dos resíduos de aminoácidos através do ranqueamento dos valores de pontuação gerados por meio da ancoragem molecular. Depois do ranqueamento, foram obtidas as poses de complexos (cobre e paládio) gerados pela função pontuação ChemPLP. Em seguida, foram escolhidas 20 melhores poses de complexo de cobre e 12 complexos de paládio as que apresentaram maior número de interações com os resíduos do sítio ativo, assim como os que apresentaram maiores valores de pontuação na função de pontuação validada para catepsina B. Para estes, foi realizada a análise criteriosa das interações de complexos de cobre no sítio ativo da catepsina B, onde os resultados estão representados na **Tabela 6**.

Tabela 6. Interação de 10 melhores complexos de cobre, que apresentaram melhores interações ao sítio do etoposídeo frente aos resíduos de aminoácidos da catepsina B (PDB ID: 1GMV).

Ligante	ChemPLP	Nº de Interações	A173	G74		G73-G74	G198	P76	A200	N72	C29	M195	M196
1gmy													
1A_2A_3D_4C	86,9	3											
1B_2B_3D_4A	64,82	3											
1C_2A_3D_4C	81,17	3											
1D_2A_3D_4C	82,94	3											
1D_2B_3D_4C	83,55	3											
1D_2C_3D_4C	76,48	3											
1E_2C_3D_4C	76,51	3											
1A_2B_3D_4C	83,36	2											
1B_2B_3D_4C	82,39	2											
1B_2A_3D_4A	81,17	1											

Ligante	ChemPLP	Nº de Interações	Q23	W30	V176	H199	98-H199	E122	E245	G197	G241	Y75	S175
1gmy													
1A_2A_3D_4C	86,9	3											
1B_2B_3D_4A	64,82	3											
1C_2A_3D_4C	81,17	3											
1D_2A_3D_4C	82,94	3											
1D_2B_3D_4C	83,55	3											
1D_2C_3D_4C	76,48	3											
1E_2C_3D_4C	76,51	3											
1A_2B_3D_4C	83,36	2											
1B_2B_3D_4C	82,39	2											
1B_2A_3D_4A	81,17	1											

	Ligação de hidrogênio clássica.		Hidrofóbica (empilhamento π)
	Ligação de hidrogênio não clássica.		Ligação electrostáticas
	Hidrofóbica (π -alquila, alquila-alquila)		ligação (π - enxofre)

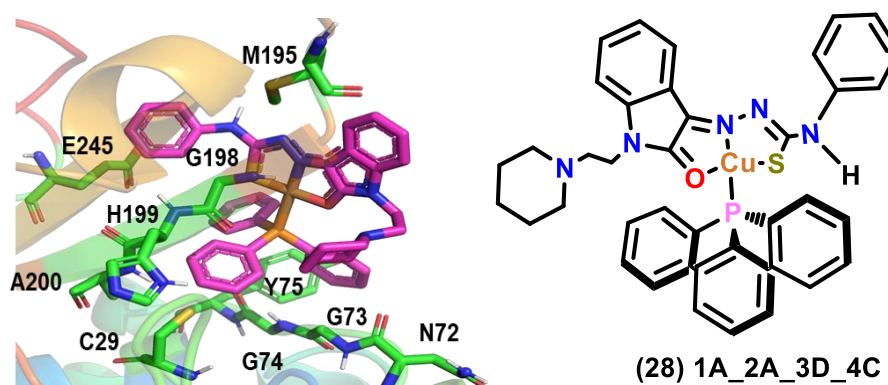


Figura 35. Interação do complexo de cobre 1A_2A_3D_4C (**28**) com os resíduos de aminoácidos da catepsina B (PDB:1GMV).

Com base nos resultados obtidos na **Figura 35**, observa-se interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do anel aromático pertencente a isatina com a cadeia lateral o resíduo de aminoácido de M195. O anel de cinco membros pertencente a isatina realiza interação de hidrogênio não clássica do tipo π -doador com a função amina do resíduo de G198. A anilina substituída da tiossemicarbazona realiza interação eletrostática do tipo anión- π com a hidroxila do resíduo de E245. Os anéis aromáticos pertencente a trifenilfosfina realiza interação hidrofóbica do tipo empilhamento amida- π com os resíduos da G198-H199 e G73-G74. Ocorre interação hidrofóbica do tipo empilhamento π através do anel aromático da trifenilfosfina com resíduo de aminoácido de Y75. Verifica-se interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do anel aromático da trifenilfosfina com o grupo alquila da A200. O anel aromático da trifenilfosfina realiza interação π -enxofre com átomo de enxofre do resíduo de C29. A subunidade piperidina substituída do complexo realiza interação de hidrogênio não clássica com a carbonila do resíduo de N72.

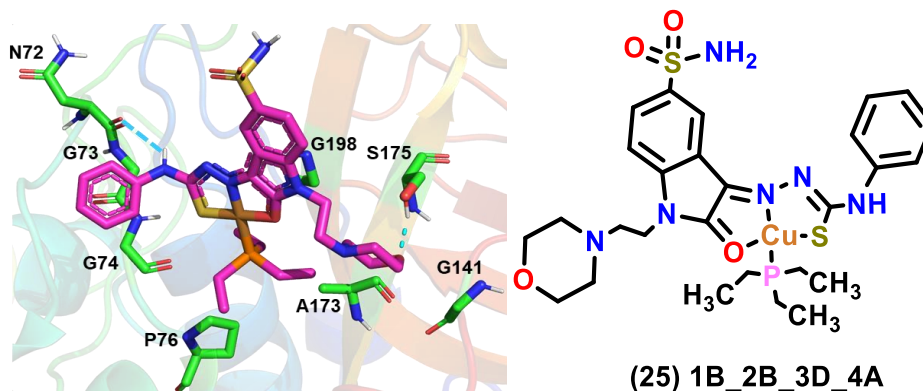


Figura 36. Interação do complexo de cobre 1B_2B_3D_4A (**25**) com os resíduos de aminoácidos da catepsina B (PDB:1GMV). Interação de hidrogênio estão representadas em azul.

Os resultados mostrados na **Figura 36**, mostra que amina substituída da tiossemicarbazona realiza interação de hidrogênio clássica com a carbonila do resíduo de N72. A anilina substituída da tiossemicarbazona faz interação hidrofóbica do tipo empilhamento amida- π com o resíduo de G73-G74. Ocorre interação de hidrogênio não clássica através do oxigênio da base da isatina com o resíduo de G198. A subunidade da morfolina substituída realiza interação de hidrogênio clássica com a hidroxila do resíduo de S175, paralelamente, a mesma subunidade, realiza interação de hidrogênio não clássica com a função amina do resíduo de G241. Finalmente, ocorre interação hidrofóbica do tipo alquila através da trietilfosfina com as cadeias laterais do resíduo de P76-A173.

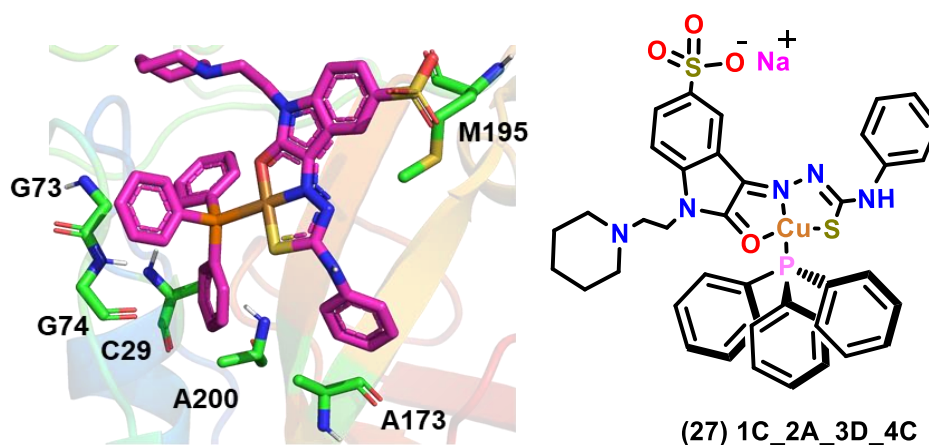


Figura 37. Interação do complexo de cobre 1C_2A_3D_4C (**27**) com os resíduos de aminoácidos da catepsina B (PDB:1GMV).

Na **Figura 37**, mostra interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do anel aromático pertencente a isatina com a cadeia lateral o resíduo de aminoácido da M195, a mesma interação verifica-se a partir do anel aromático substituído da tiossemicarbazona com o resíduo de A173. Ocorre interação hidrofóbica do tipo empilhamento amida- π através do anel aromático da trifenilfosfina com o resíduo de G73-G74. A partir da trifenilfosfina, ocorre interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do grupo alquila do resíduo de A200. Verificou-se interação π -enxofre através da trifenilfosfina com o átomo de enxofre de C29.

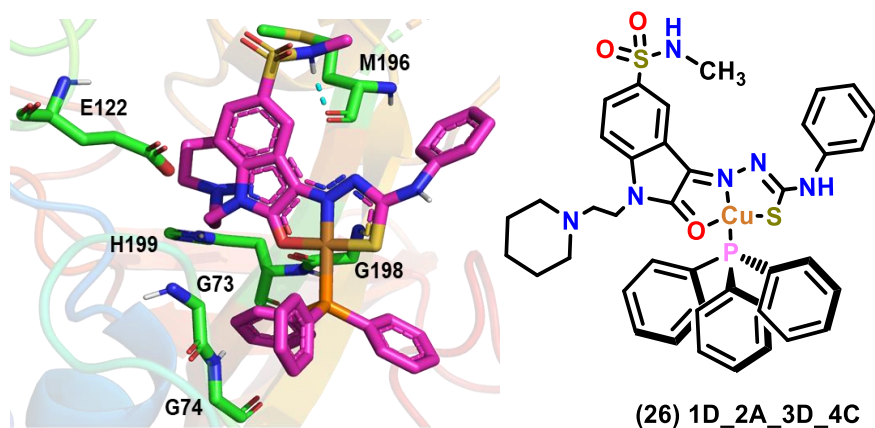


Figura 38. Interação do complexo de cobre 1D_2A_3D_4C (**26**) com os resíduos de aminoácidos da catepsina B (PDB:1GMY). Interação de hidrogênio estão representadas em azul.

Ocorre interação de hidrogênio clássica através da amida pertencente a subunidade sulfonamida com a carbonila do resíduo de M196 como mostrado na **Figura 38**. O anel aromático pertencente a isatina realiza interação eletrostática tipo ânion- π com a hidroxila do resíduo do E122, o mesmo resíduo a partir da sua hidroxila realiza interação de hidrogênio não clássica com a subunidade da piperidina substituída. Verifica-se interação hidrofóbica tipo empilhamento amida- π a partir da trifenilfosfina com o resíduo de G198-H199. Observa-se interação de hidrogênio não clássica através da subunidade piperidina com a carbonila do resíduo de G198. O anel imidazólico pertencente a H199 faz interação hidrofóbica tipo π -alquila com a subunidade da piperidina substituída do complexo. Ocorre interação hidrofóbica do tipo empilhamento amida- π a partir da trifenilfosfina com o resíduo de G73 e G74. Observa-se interação de hidrogênio não clássica do tipo π -doador através do anel aromático da trifenilfosfina com a amina do resíduo de G74.

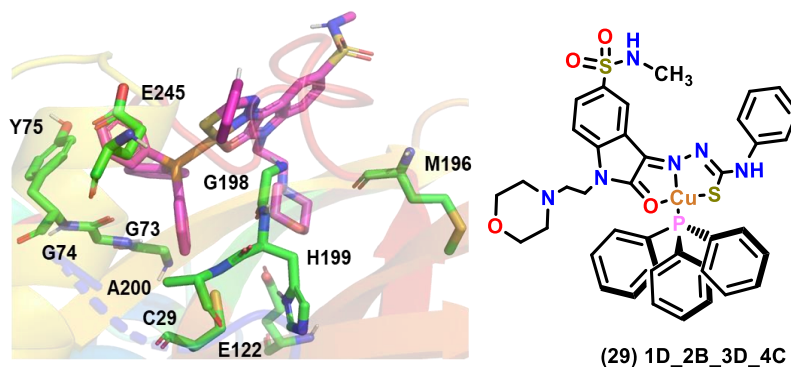


Figura 39. Interação do complexo de cobre 1D_2B_3D_4C (**29**) com os resíduos de aminoácidos da catepsina B (PDB:1GMV).

A hidroxila do resíduo de aminoácido de E245 representado na **Figura 39**, realiza interação eletrostática tipo anion- π através da anilina substituída da tiossemicarbazona. A subunidade da morfolina, realiza interação de hidrogênio não clássica com a carbonila do resíduo de M196 e com o resíduo de G198. Ocorre interação de hidrogênio não clássica através da morfolina com a hidroxila do resíduo do E122. Através dos anéis aromáticos pertencentes a trifenilfosfina, observa-se interação hidrofóbica do tipo empilhamento amida- π com os resíduos da G73-G74 e com G198-H199. Verifica-se interação hidrofóbica do tipo empilhamento T através do anel aromático pertencente a trifenilfosfina com o resíduo de Y75. A cadeia lateral do resíduo de aminoácido de A200 faz interação hidrofóbica do tipo π -alquila com os anéis aromáticos da trifenilfosfina. O enxofre do resíduo de C29 realiza interação tipo π -enxofre com o anel aromático da trifenilfosfina.

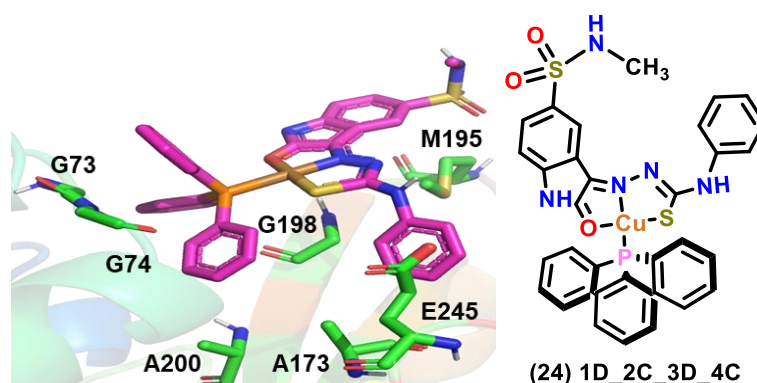


Figura 40. Interação do complexo de cobre 1D_2C_3D_4C (**24**) com os resíduos de aminoácidos da catepsina B (PDB:1GMV).

Os resultados apresentados na **Figura 40**, demonstram que os anéis aromáticos pertencentes a trifenilfosfina fazem interação hidrofóbica do tipo empilhamento amida- π

com os resíduos da G73-G74. A cadeia lateral do resíduo de aminoácido de A200 faz interação hidrofóbica do tipo π -alquila com os anéis aromáticos da trifenilfosfina. Ocorre interação eletrostática tipo anion- π através da anilina substituída da tiossemicarbazona com a hidroxila do resíduo de E245. O anel pertencente a anilina realiza interação hidrofóbica do tipo π -alquila com a cadeia lateral do resíduo de A173. O anel aromático da isatina, realiza interação hidrofóbica do tipo π -alquila com o grupo alquila do resíduo de M195. Verifica-se interação de hidrogênio não clássica do tipo π -doador através do anel de cinco membros pertencente a isatina com a função amina do resíduo de G198.

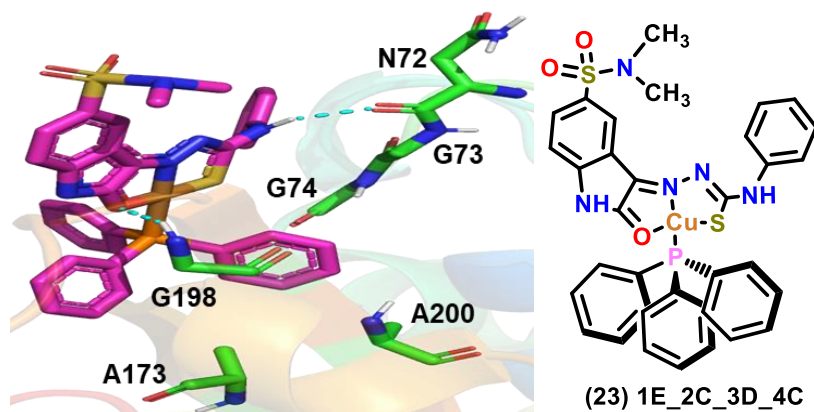


Figura 41. Interação do complexo de cobre 1E_2C_3D_4C (**23**) com os resíduos de aminoácidos da catepsina B (PDB:1GMY). Interações de hidrogênio estão representadas azul.

Os resultados apresentados na **Figura 41**, mostram que função amina do resíduo de aminoácido de G198 faz interação de hidrogênio não clássica do tipo π -doador com o anel de cinco membros pertencente a isatina. Verifica-se interação de hidrogênio clássica através de oxigênio da base da isatina com a função amina do resíduo de G198. O anel aromático substituído da tiossemicarbazona realiza interação hidrofóbica do tipo empilhamento amida- π com o resíduo de G73 e G74. Verifica-se interação de hidrogênio clássica através da amina substituída da tiossemicarbazona com a carbonila do resíduo de N72. Observou-se interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do anel aromático da trifenilfosfina como grupo alquila da A173, o mesmo ocorre para o resíduo de A200.

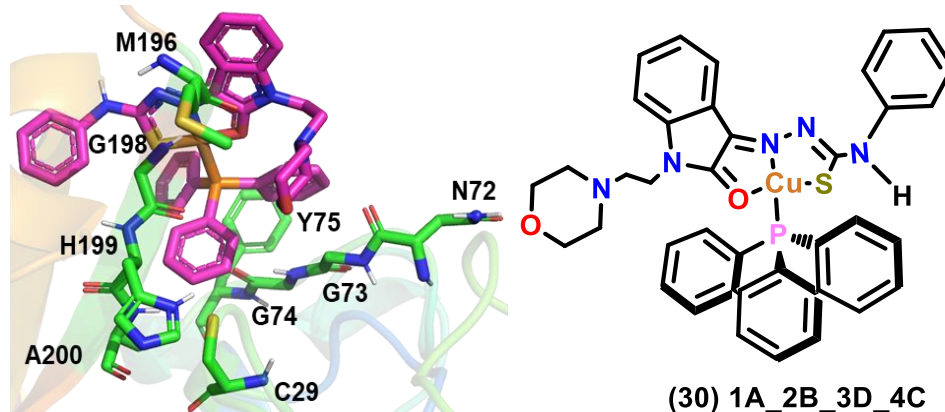


Figura 42. Interação do complexo de cobre 1A_2B_3D_4C (**30**) com os resíduos de aminoácidos da catepsina B (PDB:1GMV).

Com base nos resultados apresentados na **Figura 42**, pode-se observar que subunidade da morfolina substituída da isatina, realiza interação de hidrogênio não clássica com a carbonila dos resíduos de aminoácidos de M196 e de N72. A partir dos anéis aromáticos pertencentes a trifenilfosfina, observa-se interação hidrofóbica do tipo empilhamento amida- π com os resíduos G198-H199 e G73-G74. Verificou-se interação hidrofóbica do tipo empilhamento T através do trifenilfosfina com o resíduo de Y75. Ocorre interação hidrofóbica do tipo π -alquila através da trifenilfosfina com o grupo alquila do resíduo de A200. O enxofre do resíduo de C29 realiza interação tipo π -enxofre com o anel aromático da trifenilfosfina.

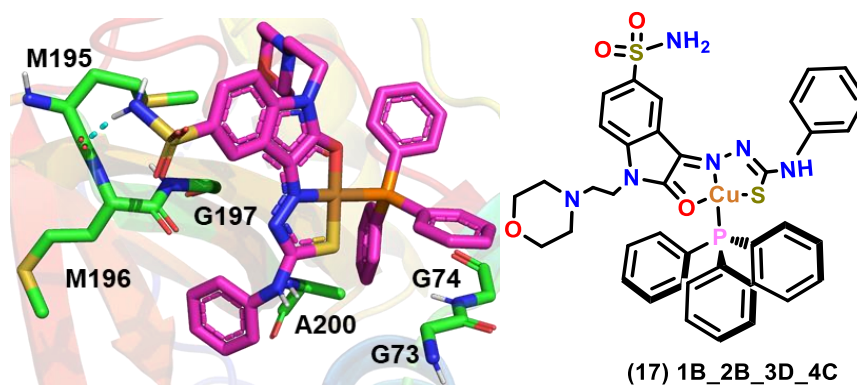


Figura 43. Interação do complexo de cobre 1B_2B_3D_4C (**17**) com os resíduos de aminoácidos da catepsina B (PDB:1GMV). Interação de hidrogênio estão representadas em azul.

O resultado mostrado na **Figura 43**, ilustra que a partir dos anéis aromáticos pertencentes a trifenilfosfina, observa-se interação hidrofóbica do tipo empilhamento amida- π com os resíduos G73-G74. A cadeia do resíduo de aminoácido de A200 faz

interação hidrofóbica do tipo π -alquila com o anel aromático da trifenilfosfina. Verifica-se interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do anel aromático pertencente a isatina com a cadeia lateral do resíduo de M195. A amida pertencente a subunidade sulfonamida, realiza interação de hidrogênio clássica com a carbonila do resíduo de M195. O oxigênio pertencente a sulfona, realiza interação de hidrogênio não clássica com o resíduo de aminoácido de M196. Observa-se interação de hidrogênio não clássica através do átomo de nitrogênio pertencente a base da tiossemicarbazona com o resíduo de G197.

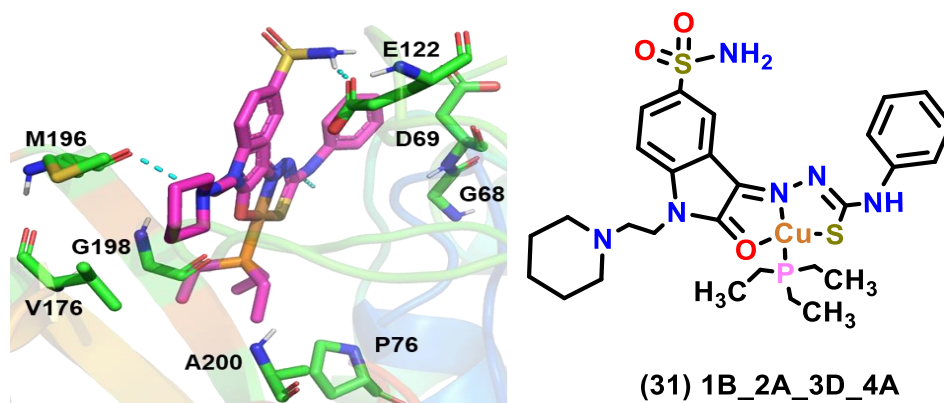


Figura 44. Interação do complexo de cobre 1B_2A_3D_4A (31) com os resíduos de aminoácidos da catepsina B (PDB:1GMV). Interação de hidrogênio estão representadas em azul.

Na **Figura 44**, pode-se observar interação hidrofóbica do tipo alquila, através da etila substituída da fosfina com as cadeias laterais dos resíduos de aminoácidos de A200 e P76. O anel aromático substituído da tiossemicarbazona realiza interação hidrofóbica do tipo empilhamento amida- π com os resíduos de G68-D69. Ocorre interação hidrofóbica tipo alquila a partir da subunidade piperidina com a cadeia lateral dos resíduos de aminoácidos M196 e V176. Observa-se interação de hidrogênio não clássica através da subunidade da piperidina com a carbonila do resíduo de G198. A carbonila do resíduo de aminoácido de M196 realiza interação de hidrogênio clássica com o nitrogênio pertencente a piperidina substituída, paralelamente, verifica-se na sulfonamida com a hidroxila do resíduo de E122. Observou-se interação eletrostática tipo anion- π através do anel aromático pertencente a isatina com a hidroxila do resíduo de E122.

Com base nos resultados obtidos de complexo de cobre II triados previamente no sítio de etoposídeo, foi possível observar subunidades estruturais que forneceram maior

número de interações com os resíduos de aminoácidos no sítio ativo da catepsina B, sendo estas destacadas a seguir na **Figura 45** :

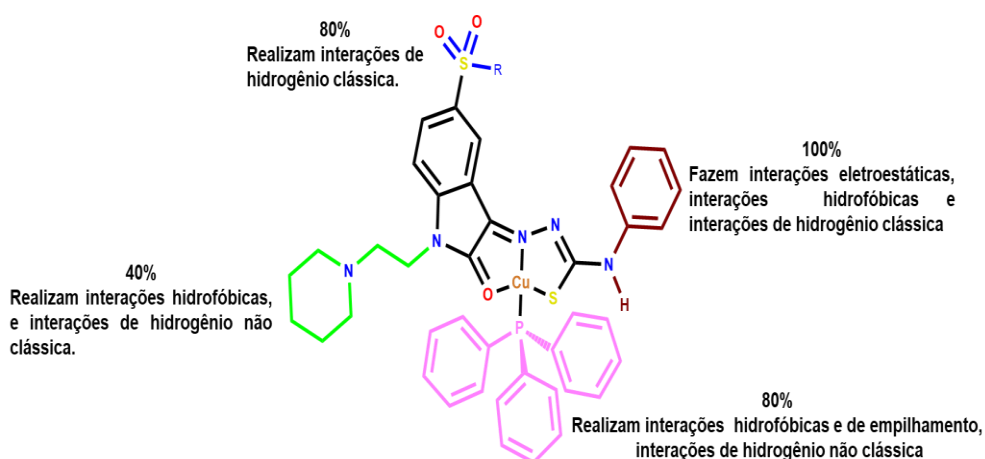


Figura 45. Padrões de substituintes do complexo de cobre II que foram triados no sítio de etoposídeo, e que demonstraram maior número de interações no sítio ativo da catepsina B.

Os padrões de substituintes de complexo de cobre II que apresentaram maior número de interações com o sítio ativo do etoposídeo, no sítio ativo da catepsina B, os padrões que apresentaram maiores interações com os resíduos do sítio ativo contêm como substituintes: 80% a sulfonas (azul), 100% a amina substituída com anel aromático (marrom), 40% a piperidina (verde) e 80% a trifenílfosfina (pink). Este padrão, está relacionado com a presença do grupo doador e receptor de ligação de hidrogênio, interações hidrofóbicas e eletroestáticas do tipo de empilhamento- π e empilhamento-T que os anéis aromáticos realizam, interações do tipo π -enxofre e interações de hidrogênio não clássica do tipo $\pi \cdots H-C$ com os orbitais π que acumulam concentrações de carga nos anéis aromáticos e ainda, a presença do substituinte N-heterocíclico possibilitou interação hidrofóbica do tipo π -alquila (FOKOUÉ et al., 2020; OLIVEIRA, 2016).







5.5) Resultados da ancoragem molecular da catepsina L complexada com a substância de código ChemBL de 424, derivados de complexo de paládio II.

Realizou-se a análise das interações dos resíduos de aminoácidos através do ranqueamento dos valores de pontuação gerados por meio da ancoragem molecular. Depois do ranqueamento, foram obtidas as poses de complexos (cobre e paládio) gerados pela função pontuação GoldScore. Em seguida, foram escolhidas as melhores 20 poses de complexo de cobre e 12 complexos de paládio as que apresentaram maior número de interações com os resíduos do sítio ativo, assim como os que apresentaram maiores valores de pontuação na função de pontuação validada para catepsina L. Para estes, foi realizada a análise criteriosa das interações de complexos de cobre no sítio ativo da catepsina L, onde os resultados estão representados na **Tabela 7**.

Tabela 7. Interação dos complexos de paládio com os resíduos de aminoácidos da catepsina L (PDB ID: 2XU1).

Ligante	GoldScores	Nº de interações	A135	A214	C25	W26	G67	G68	G61	D162	M161	H163
2xu1												
Fen_H_H2O	43,62	6										
Fen_H_Cl	43,53	5										
Fen_CH3_H2O	43,47	4										
Fen_CH3_Cl	45,96	4										
Fen_H	47,40	4										
Bipy_Ch3_Cl	43,06	3										
Bipy_CH3	47,33	3										
Bipy_H	47,85	3										
Fen_CH3	45,75	2										
Bipy_CH3_H2O	44,42	2										
Bipy_H_H2O	42,74	2										
Bipy_H_Cl	41,46	2										

Ligante	GoldScores	Nº de interações	L69	E63	N62	N66	M70	Y72	M161-D162	L144	G67-G68	62-H163	Q19
2xu1													
Fen_H_H2O	43,62	6											
Fen_H_Cl	43,53	5											
Fen_CH3_H2O	43,47	4											
Fen_CH3_Cl	45,96	4											
Fen_H	47,40	4											
Bipy_Ch3_Cl	43,06	3											
Bipy_CH3	47,33	3											
Bipy_H	47,85	3											
Fen_CH3	45,75	2											
Bipy_CH3_H2O	44,42	2											
Bipy_H_H2O	42,74	2											
Bipy_H_Cl	41,46	2											

 Ligação de hidrogênio clássica.	 Ligação π solitário	 Hidrofóbica (empilhamento π)
 Ligação de hidrogênio não clássica.	 Ligação (π - enxofre)	 Hidrofóbica (π -alquila, alquila-alquila)

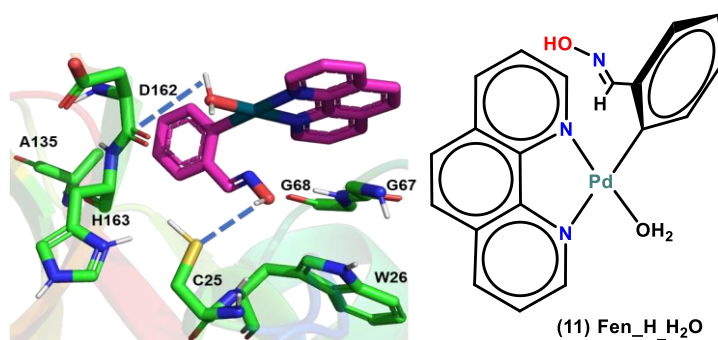


Figura 46. Interação do complexo de Paládio Fen_H_H₂O (**11**) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio clássica estão representadas em azul.

Com base na **Figura 46**, é possível observar interação de hidrogênio clássica através da hidroxila da benzaldoxima com o grupo tiol do resíduo de aminoácido de C25. A molécula de água pertencente ao complexo, realiza interação de hidrogênio clássica com a carbonila do resíduo de aminoácido de D162. O anel aromático pertencente a benzaldoxima, realiza interação hidrofóbica do tipo empilhamento amida- π com o resíduo de H163-D162. Os anéis pertencentes a fenantrolina realizam interação hidrofóbica tipo amida- π com os resíduos de G67-G68. A carbonila do resíduo de G68 realiza interação de hidrogênio não clássica com a fenantrolina. Verifica-se interação de hidrogênio não clássica através da hidroxila pertencente a benzaldoxima com o resíduo de G67, adicionalmente, verifica-se também com o anel de 5 membros do resíduo de W26. Observa-se interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do anel aromático pertencente a benzaldoxima com o grupo alquila do resíduo de A135.

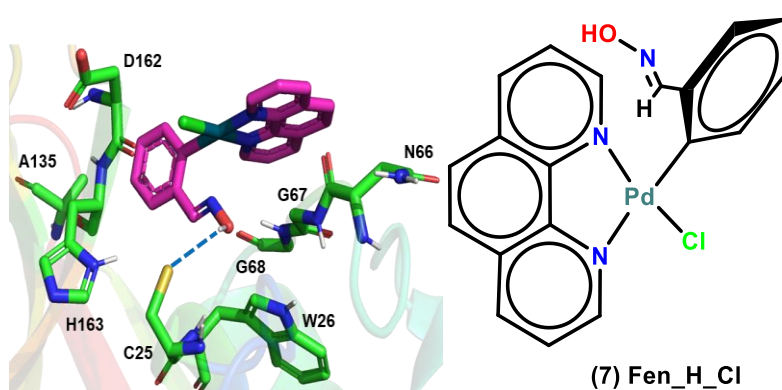


Figura 47. Interação do complexo de Paládio Fen_H_Cl (**7**) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio clássica estão representadas em azul.

Ocorre interação de hidrogênio clássica através da hidroxila da benzaldoxima com o grupo tiol do resíduo de aminoácido de C25 segundo a **Figura 47**. Verifica-se interação de hidrogênio não clássica através da hidroxila pertencente a benzaldoxima com o resíduo de G67, adicionalmente, verifica-se também com o anel de 5 membros do resíduo

do W26. A carbonila. Os anéis pertencentes a fenantrolina realizam interação hidrofóbica tipo amida- π com os resíduos de G67-G68. Observa-se interação do tipo π solitário através do anel aromático da fenantrolina com a carbonila do resíduo de N66. O anel aromático pertencente a benzaldoxima, realiza interação hidrofóbica do tipo empilhamento amida- π com os resíduos de H163-D162. Verifica-se interação hidrofóbica do tipo π -alquila, a partir do anel aromático da benzaldoxima com a cadeia lateral do resíduo de A135.

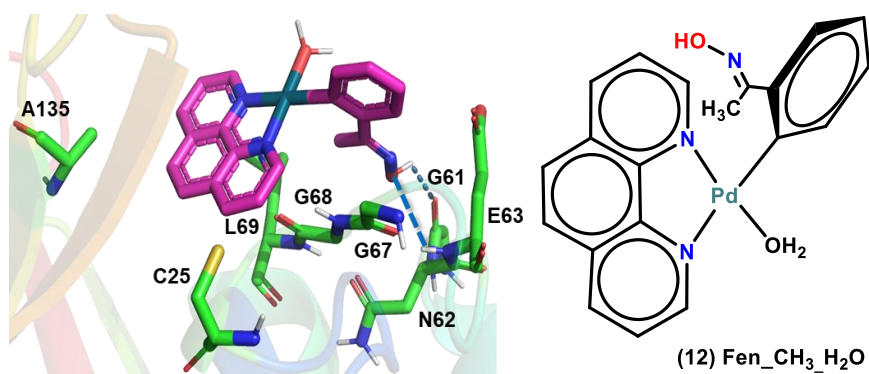


Figura 48. Interação do complexo de Paládio Fen_CH₃_H₂O (**12**) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio clássica estão representadas em azul.

Os resultados apresentados na **Figura 48**, mostra interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do anel aromático pertencente a benzaldoxima com a cadeia lateral do resíduo de A135. Verifica-se interação do tipo π -enxofre a partir do resíduo de C25 com anel aromático da fenantrolina. Observa-se interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do anel aromático pertencente a fenantrolina com o grupo alquila do resíduo de L69. Ocorre interação hidrofóbica do tipo alquila através da metila substituída do ligante benzaldoxima a cadeia lateral do resíduo de L69. Verifica-se interação do tipo π -solitário através do anel aromático da fenantrolina com a carbonila do resíduo de G68. Ocorre interação de hidrogênio não clássica através do anel aromático da fenantrolina com a amina do resíduo de G67 e com a carbonila do G68. Os resíduos de aminoácidos de G67-G68, fazem interação hidrofóbica do tipo amida- π com o anel aromático da benzaldoxima. O resíduo de aminoácido de N62, faz interação de hidrogênio não clássica com o anel aromático de benzaldoxima. Verifica-se interação de hidrogênio clássica através da hidroxila da benzaldoxima com a amina do resíduo de E63 e com a carbonila do resíduo de G61.

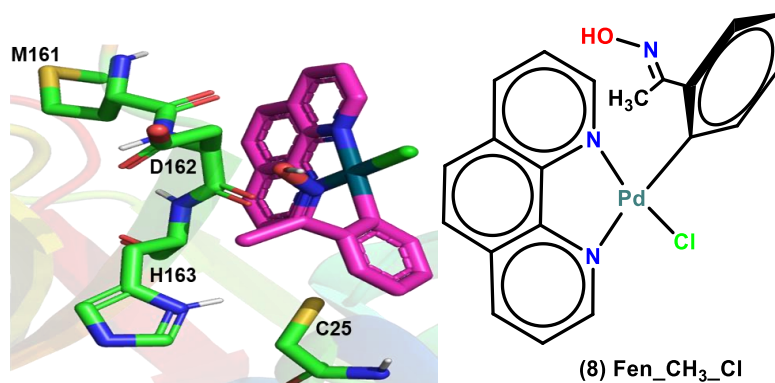


Figura 49. Interação do complexo de Paládio Fen_CH₃_Cl (**8**) com os resíduos de aminoácidos.

O complexo de paládio apresentado na **Figura 49**, faz interação hidrofóbica do tipo π -alquila, através da metila substituída do ligante benzaldoxima com o anel imidazólico do resíduo de H163. O resíduo de C25, realiza interação de hidrogênio não clássica do tipo π -doador a partir do anel aromático pertencente ao ligante benzaldoxima. O mesmo resíduo realiza interação do tipo π -enxofre através do anel aromático pertencente ao ligante da fenantrolina. Verifica-se interação hidrofóbica do tipo empilhamento amida- π , através dos anéis aromáticos da fenantrolina com o resíduo de H163-D162. Observa-se interação do tipo π solitário através do anel aromático da fenantrolina com a carbonila do resíduo de M161. O resíduo de aminoácido de D162 faz interação hidrofóbica do tipo π -sigma com o anel aromático.

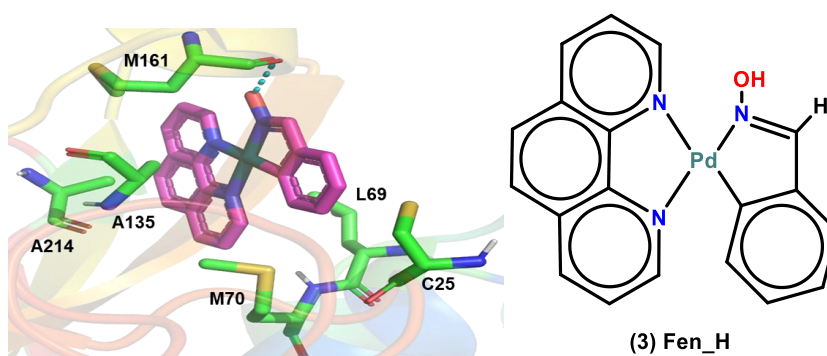


Figura 50. Interação do complexo de Paládio Fen_H (**3**) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio clássica estão representadas em azul.

Com base no resultado da **Figura 50**, foi possível observar interação do tipo π -enxofre a partir do anel aromático pertencente a 3-metil-2,4-dihidro-1H-isoindol-2-ol com o resíduo de C25. Verifica-se a mesma interação com o resíduo de M70. Ocorre interação hidrofóbica do tipo π -alquila, através do anel aromático pertencente ao ligante 3-metil-2,4-dihidro-1H-isoindol-2-ol com o grupo alquila do resíduo de A135. Os anéis

aromáticos pertencente a fenantrolina realizam interações hidrofóbicas do tipo π -alquila com a cadeia lateral dos resíduos de A214 e L69. Verifica-se interação de hidrogênio clássica através da hidroxila do ligante 3-metil-2,4-dihidro-1H-isoindol-2-ol com o resíduo de M161. O hidrogênio substituído no ligante 3-metil-2,4-dihidro-1H-isoindol-2-ol, realiza interação de hidrogênio não clássica com o resíduo de M161.

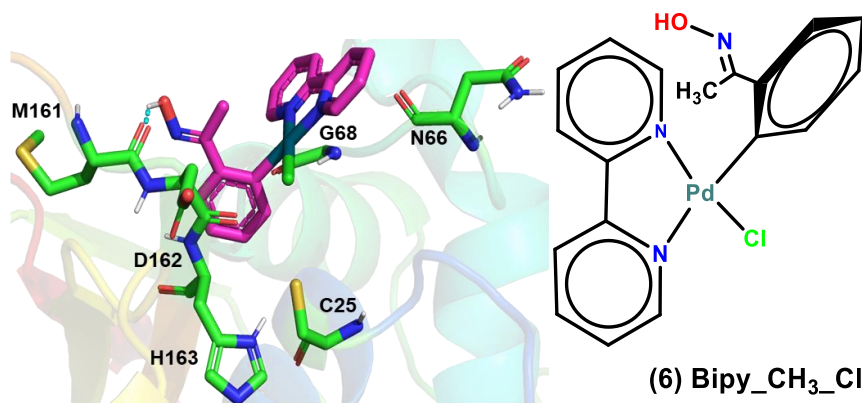


Figura 51. Interação do complexo de Paládio Bipy_CH₃_Cl (**6**) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio clássica estão representadas em azul.

A hidroxila pertencente ao ligante benzaldoxima ilustrada na **Figura 51**, realiza interação de hidrogênio clássica com o grupo carbonila do resíduo de M161. Ocorre interação hidrofóbica do tipo empilhamento amida- π , através do anel aromático pertencente ao ligante benzaldoxima com o resíduo H163-D162. Observa-se interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do anel aromático pertencente a benzaldoxima com o grupo alquila do resíduo de C25. A carbonila do resíduo de G68, faz interação de hidrogênio não clássica com a subunidade da bipyridina pertencente ao complexo. A carbonila do resíduo de N66, realiza interação do tipo π -solitário com o anel aromático da subunidade da bipyridina.

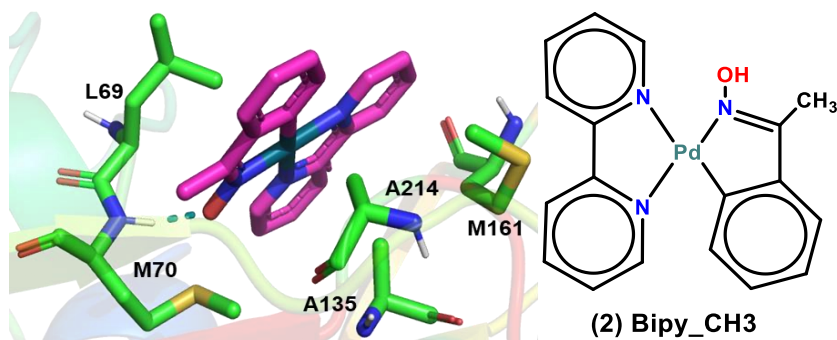


Figura 52. Interação do complexo de Paládio Bipy_CH₃ (**2**) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio clássica estão representadas em azul.

A hidroxila pertencente ao ligante 3-metil-2,4-dihidro-1H-isoindol-2-ol com base mostrada na **Figura 52**, realiza interação de hidrogênio clássica com a função amina do resíduo na M70. O resíduo de L69 realiza interação de hidrogênio não clássica com a hidroxila pertencente ao ligante 3-metil-2,4-dihidro-1H-isoindol-2-ol. A metila substituída do ligante 3-metil-2,4-dihidro-1H-isoindol-2-ol, realiza interação hidrofóbica do tipo alquila com a cadeia lateral do resíduo de M70. Verifica-se interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do anel aromático pertencente a ligante 3-metil-2,4-dihidro-1H-isoindol-2-ol com a cadeia lateral do resíduo de A214. Observa-se interação hidrofóbica do tipo π -alquila através dos anéis aromáticos pertencentes a bipyridina com o grupo alquila dos resíduos de M161 e A135. Através do anel aromático pertencente a bipyridina, ocorre interação do tipo π -enxofre com o resíduo de M70.

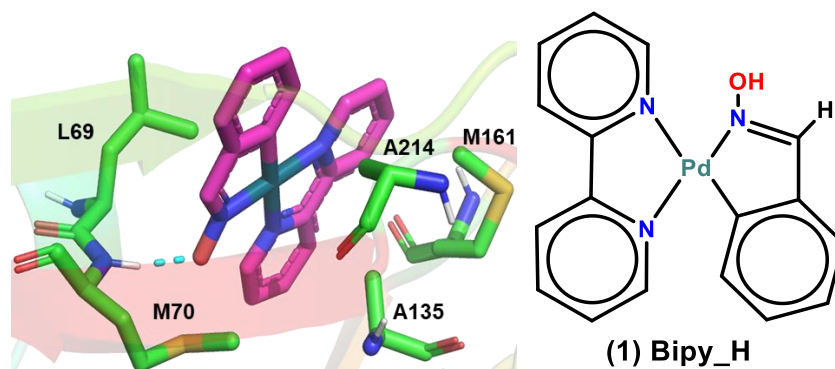


Figura 53. Interação do complexo de Paládio Bipy_H (**1**) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio clássica estão representadas em azul.

Com base na **Figura 53**, foi possível observar interação hidrofóbica do tipo π -alquila através dos anéis aromáticos pertencentes a bipyridina o grupo alquila do resíduo de M161. Observa-se interação hidrofóbica do tipo π -alquila através dos anéis aromáticos pertencentes a bipyridina com o grupo alquila do resíduo de A135, o mesmo ocorre para resíduo A214. Verifica-se interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do anel aromático pertencente a ligante 3-metil-2,4-dihidro-1H-isoindol-2-ol com o grupo a

cadeia lateral do resíduo A214, o mesmo ocorre com o anel aromático pertencente ao ligante, ligante 3-metil-2,4-dihidro-1H-isoindol-2-ol com o grupo alquila do resíduo de A214. a hidroxila pertencente ao ligante 3-metil-2,4-dihidro-1H-isoindol-2-ol, realiza interação de hidrogênio clássica com a amina do resíduo na M70. O resíduo de L69 realiza interação de hidrogênio não clássica com a hidroxila pertencente ao ligante 3-metil-2,4-dihidro-1H-isoindol-2-ol.

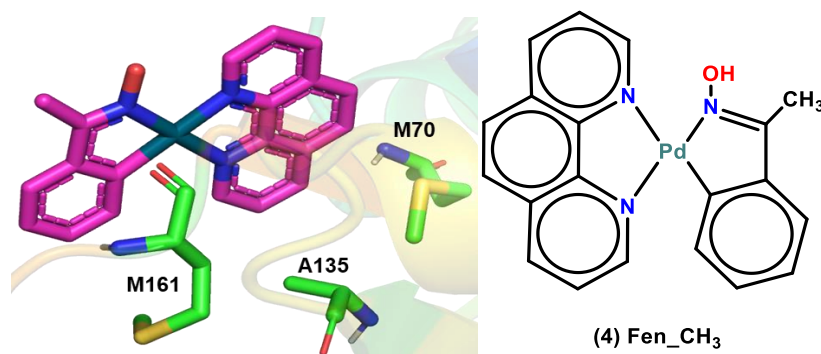


Figura 54. Interação do complexo de Paládio Fen_CH₃ (**4**) com os resíduos de aminoácidos.

Os anéis aromáticos pertencente a fenantrolina representado na **Figura 54**, realizam interações hidrofóbicas do tipo π -alquila com o grupo alquila do resíduo de A135. realiza interação do tipo π -enxofre através do anel aromático ao ligante da fenantrolina com o átomo de enxofre pertencente ao resíduo de M70. Observa-se interação de hidrogênio clássica através da hidroxila do ligante 3-metil-2,4-dihidro-1H-isoindol-2-ol com o resíduo de M161. Verifica-se interação de hidrogênio clássica através do anel aromático pertencente ao ligante 3-metil-2,4-dihidro-1H-isoindol-2-ol com o resíduo de M161.

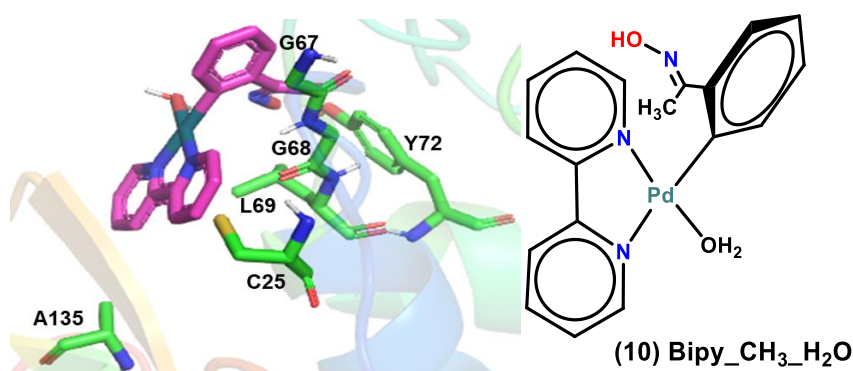


Figura 55. Interação do complexo de Paládio Bipy_CH₃_H₂O (**10**) com os resíduos de aminoácidos.

A subunidade da biperidina representada na **Figura 55**, realiza interação do tipo π -enxofre com o resíduo de C25. O anel aromático pertencente a subunidade de biperidina realiza interação hidrofóbica do tipo π -alquila com a cadeia lateral do resíduo

de A135. Ocorre interação hidrofóbica do tipo empilhamento amida- π , através do anel aromático pertencente a benzaldoxima com o resíduo de G67-G68. Verifica-se interação hidrofóbica do tipo π -alquila através da metila substituída do ligante benzaldoxima com o resíduo de Y72. Observa-se interação hidrofóbica do tipo alquila através da metila substituída da benzaldoxima com o grupo alquila do resíduo de L69.

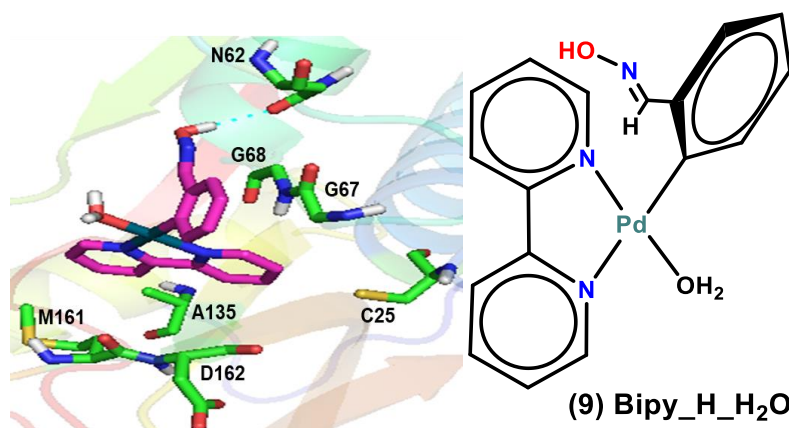


Figura 56. Interação do complexo de Paládio Bipy_H_H₂O (9) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio clássica estão representadas em azul.

A hidroxila pertencente ao ligante benzaldoxima representada na **Figura 56**, realiza interação de hidrogênio clássica com o grupo carbonila do resíduo de N62. Verifica-se interação do tipo π enxofre a partir do anel aromático pertencente a bipyridina com o átomo de enxofre do resíduo de C25. Observa-se interação hidrofóbica do tipo empilhamento amida- π , através do anel aromático pertencente ao ligante benzaldoxima com o resíduo de M161-D162. O anel aromático pertencente a subunidade bipyridina realiza interação hidrofóbica do tipo π -alquila com o grupo alquila do resíduo de A135. Ocorre interação hidrofóbica do tipo empilhamento amida- π , através do anel aromáticos pertencente ao ligante benzaldoxima com o resíduo de G67-G68.

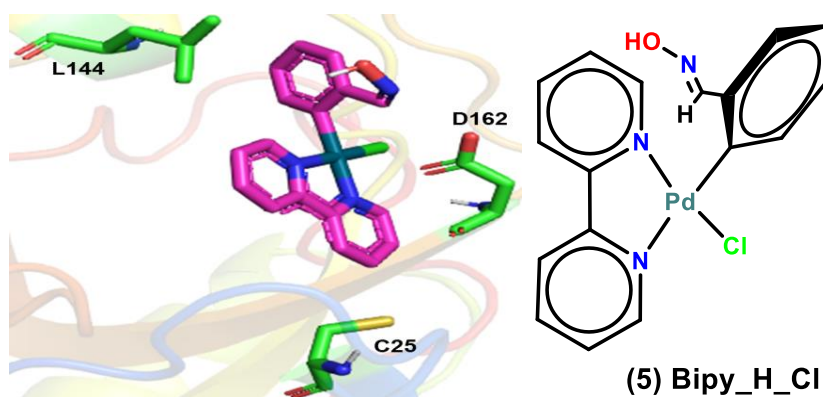


Figura 57. Interação do complexo de Paládio Bipy_H_Cl (**5**) com os resíduos de aminoácidos.

A carbonila do resíduo de D162 ilustrado na **Figura 57**, realiza interação de hidrogênio não clássica com a subunidade da biperidina pertencente ao complexo. Verifica-se interação do tipo π -enxofre através do anel aromático pertencente a biperidina com o átomo de enxofre da C25. Observa-se interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do anel aromático da benzaldoxima com o grupo alquila do resíduo de L144.

Com base nos resultados obtidos através da ancoragem molecular do sítio ativo da catepsina L, foi possível observar subunidades estruturais que forneceram maior número de interações dos complexos de paládio II com os resíduos de aminoácidos no sítio ativo L, sendo estas destacadas a seguir na **Figura 58**:

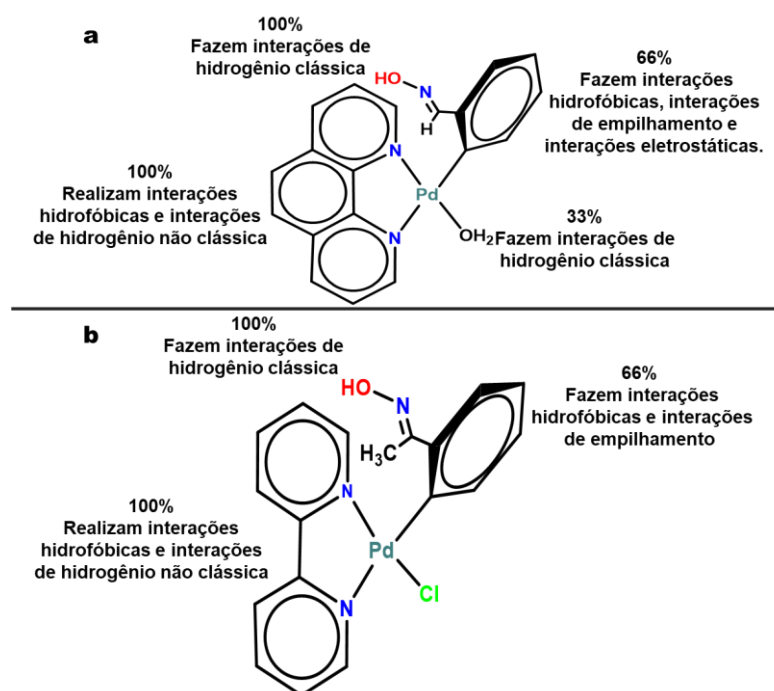


Figura 58. Padrões de substituintes do complexo de paládio II que demonstraram maior número de interações no sítio ativo da catepsina L.

Os complexos de paládio (II) contendo substituintes fenantrolina **(a)** e bipyridina **(b)**, os anéis aromáticos de ambos os complexos, apresentarem maior número de interações com os resíduos do sítio ativo, os anéis aromáticos de **(a)** e **(b)**, realizaram 100% interações hidrofóbicas, a hidroxila substituída representado em (vermelho) em ambos complexos, realiza 100% interações de hidrogênio clássica, o anel aromático da benzodioxina em ambos complexos **(a)** e **(b)** realiza 66% de interações hidrofóbica e de empilhamento, o substituinte de H₂O do complexo **(a)** realiza 100% interação de hidrogênio clássica. Tal padrão está relacionado com a presença do grupo doador e aceptor de ligação de hidrogênio, interações hidrofóbicas interações do tipo π -enxofre e interações de hidrogênio não clássica do tipo $\pi\cdots\text{H-C}$ com os orbitais π que acumulam concentrações de carga nos anéis aromáticos (FOKOUÉ et al., 2020; OLIVEIRA, 2016).








5.6) Resultados da ancoragem molecular da catepsina L complexada com a substância de código ChEMBL de 424 derivados de complexo de cobre II que se encaixaram melhor no sítio de ATP.

Realizou-se a análise das interações dos resíduos de aminoácidos através do ranqueamento dos valores de pontuação gerados por meio da ancoragem molecular. Depois do ranqueamento, foram obtidas as poses de complexos (cobre e paládio) gerados pela função pontuação GoldScore. Em seguida, foram escolhidas as melhores 20 poses de complexo de cobre e 12 complexos de paládio as que apresentaram maior número de interações com os resíduos do sítio ativo, assim como os que apresentaram maiores valores de pontuação na função de pontuação validada para catepsina L. Para estes, foi realizada a análise criteriosa das interações de complexos de cobre no sítio ativo da catepsina L, onde os resultados estão representados na **Tabela 8**.

Tabela 8. Interação de 10 melhores complexos de cobre, que apresentaram melhores interações no sítio do ATP frente aos resíduos de aminoácidos da catepsina L (PDB ID: 2XU1).

Ligante	GoldScore	Nº de Interações	A135	A214	D162	C25	Q19	G61	G67	G68	H163	W26	M161
2UX1													
1D_2A_3D_4A	63,01	7											
1E_2A_3D_4A	67,61	6											
1B_2A_3A_4C	64,65	6											
1B_2B_3D_4C	75,56	4											
1A_2A_3D_4A	64,11	4											
1E_2A_3C_4B	73,37	4											
1A_2A_3C_4C	72,85	3											
1D_2A_3A_4C	66,55	2											
1E_2B_3C_4C	70,32	2											
1E_2B_3D_4C	70,70	2											

Ligante	Gold Score	Nº de Interações	S213	L69	M70	I155	K117	E63	G23	W189	C65	D160	E159	D162-H163	N66	G67-G68	D160-M161	A138
2UX1																		
1D_2A_3D_4A	63,01	7																
1E_2A_3D_4A	67,61	6																
1B_2A_3A_4C	64,65	6																
1B_2B_3D_4C	75,56	4																
1A_2A_3D_4A	64,11	4																
1E_2A_3C_4B	73,37	4																
1A_2A_3C_4C	72,85	3																
1D_2A_3A_4C	66,55	2																
1E_2B_3C_4C	70,32	2																
1E_2B_3D_4C	70,70	2																

	Ligação de hidrogênio clássica.		Ligação (π - enxofre)		Hidrofóbica (empilhamento π)
	Ligação de hidrogênio não clássica.		Ligação π solitário		Hidrofóbica (π -alquila, alquila-alquila)
	Ligação electrostática		Hidrofóbica (Σ - π)		

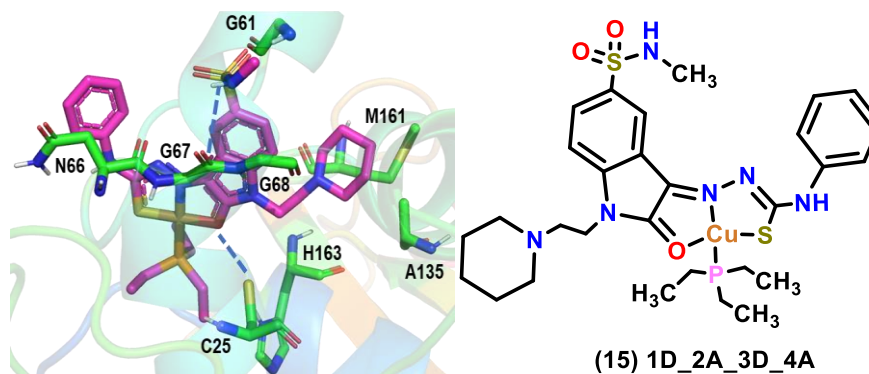


Figura 59. Interação do complexo de cobre 1D_2A_3D_4A (**15**) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

O átomo de oxigênio pertencente da isatina, realiza interação de hidrogênio clássica com a cadeia lateral do resíduo de C25. Ocorre interação hidrofóbica do tipo alquila através da trietilfosfina com o grupo alquila do resíduo de C25. A trietilfosfina realiza interação hidrofóbica do tipo π -alquila com o anel de cinco membros pertencente ao resíduo de H163. Ocorre interação hidrofóbica do tipo alquila através da piperidina com o grupo alquila do resíduo de A135. Ocorre interação de hidrogênio não clássica através da subunidade da piperidina com a carbonila do resíduo de M161. O anel aromático substituído da tiossemicarbazona realiza interação hidrofóbica do tipo σ - π com o resíduo de N66. O anel de cinco membros pertencente a isatina realiza interação de hidrogênio não clássica do tipo π doador decorrente das concentrações de cargas pertencentes aos anéis de cinco membros pertencente a isatina com a função amina do resíduo de G68, o mesmo ocorre com a subunidade amida da sulfonamida. A carbonila do resíduo de G67 realiza interação de hidrogênio clássica com a subunidade amida da sulfona. A metila substituída da amida pertencente a sulfona, realiza interação de hidrogênio não clássica com o resíduo de G61.

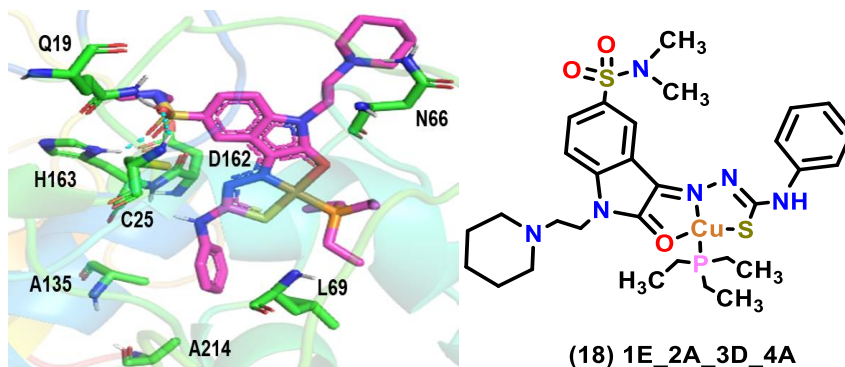


Figura 60. Interação do complexo de cobre 1E_2A_3D_4A (**18**) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

Com base no resultado apresentado na **Figura 59**, a carbonila pertencente a subunidade da sulfonamida, realiza interação de hidrogênio clássica com a amida do resíduo de Q19. Ocorre interação hidrofóbica do tipo alquila através da trietilfosfina com a cadeia lateral do resíduo de L69. A subunidade substituída da piperidina realiza interação de hidrogênio não clássica com a carbonila do resíduo de N66. Ocorre interação de hidrogênio clássica através da carbonila da subunidade de sulfonamida com o resíduo de H163, ele realiza interação de hidrogênio não clássica com a carbonila da sulfonamida. A metila substituída da amida da sulfonamida realiza interação de hidrogênio não clássica com a carbonila do resíduo de D162. A carbonila da subunidade sulfonamida realiza interação de hidrogênio não clássica com o resíduo de C25. O anel de cinco membros pertencente a isatina, realiza interação hidrofóbica do tipo π -alquila com o resíduo de C25. O anel aromático substituído da tiossemicarbazona realiza interação hidrofóbica do tipo π -alquila com as cadeias laterais dos resíduos da A135 e A214

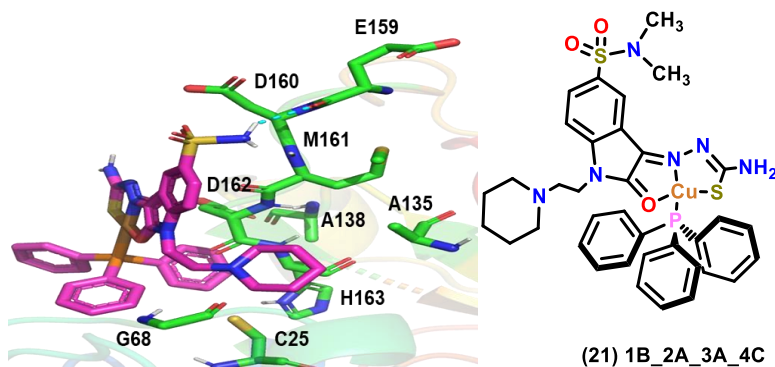


Figura 61. Interação do complexo de cobre 1B_2A_3A_4C (**21**) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

O resultado apresentado na **Figura 60**, foi possível observar interação do tipo π -solitário através do anel de aromático da isatina com a carbonila do resíduo de M161. A carbonila do resíduo do E159 realiza interação de hidrogênio clássico com amida pertencente a sulfonamida. A carbonila da sulfonamida realiza interação de hidrogênio não clássica com o resíduo de D160. A cadeia lateral do resíduo da A135, realiza interação hidrofóbica do tipo alquila com a subunidade da piperidina. A subunidade da piperidina substituída realiza interação de hidrogênio não clássica com a carbonila dos resíduos de G68-D162. Observa-se interação hidrofóbica do tipo empilhamento- π através dos anéis aromáticos pertencente a trifenilfosfina com o anel imidazólico do resíduo de H163. Verifica-se através dos anéis aromáticos da trifenilfosfina interação hidrofóbica do tipo π -alquila com o grupo alquila do resíduo de A138. Ocorre interação do tipo π -enxofre através dos anéis aromáticos da fosfina com o resíduo de C25.

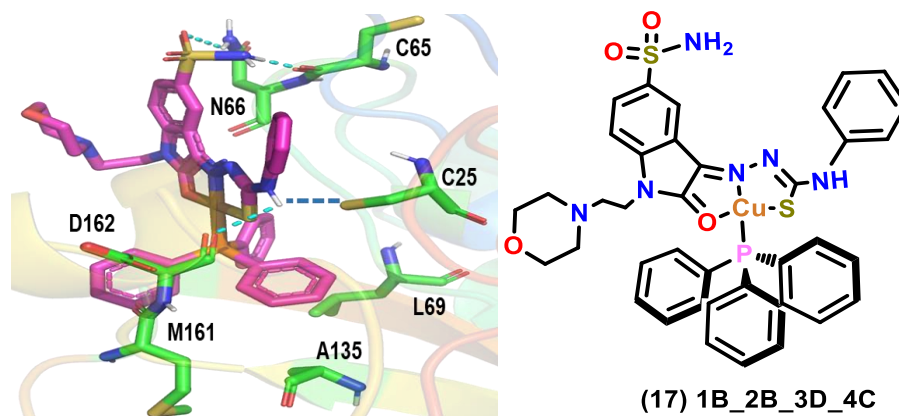


Figura 62. Interação do complexo de cobre 1B_2B_3D_4C (17) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

Segundo o resultado ilustrado na **Figura 61**, a amina substituída da tiossemicarbazona realiza interação de hidrogênio clássica com o resíduo de D162, o mesmo ocorre com o resíduo de C25. A anilina substituída da tiossemicarbazona realiza interação hidrofóbica do tipo π -alquila com a cadeia lateral do resíduo de C25. Ocorre interação hidrofóbica do tipo π -alquila através da trifenilfosfina com o grupo alquila do resíduo de A135, o mesmo verifica-se com o resíduo de L69. Observa-se interação tipo π -solitário através do trifenilfosfina com a carbonila do resíduo de M161, o mesmo acontece com o anel aromático isatina com o resíduo de N66. Verifica-se interação de hidrogênio clássico através da amida substituída da subunidade sulfonamida com a carbonila do resíduo de C65. A carbonila da subunidade sulfonamida, realiza interação de hidrogênio clássica com a função amida do resíduo de N66.

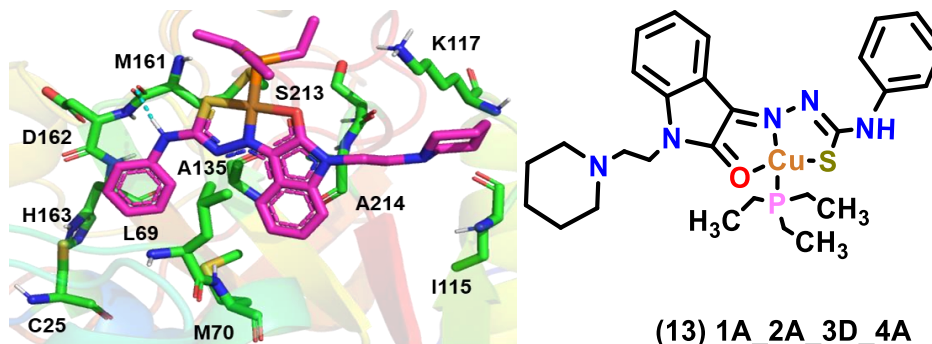


Figura 63. Interação do complexo de cobre 1A_2A_3D_4A (**13**) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

A carbonila do resíduo de M161 representado na **Figura 63**, realiza interação de hidrogênio clássica com a amina substituída da tiossemicarbazona. O anel aromático substituído da tiossemicarbazona, faz interação do tipo π -enxofre com o resíduo de M70, o mesmo verifica-se para com o resíduo de C25. Ocorre interação hidrofóbica do tipo empilhamento amida- π através do anel aromático substituído da tiossemicarbazona com o resíduo de H163-D162. Verifica-se interação hidrofóbica do tipo alquila através da trietilfosfina com a cadeia lateral do resíduo de M161. Observa-se interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do anel aromático da isatina com a cadeia lateral dos resíduos de L69 e resíduo de A214. Ocorre interação hidrofóbica do tipo σ - π através do anel de cinco aromático da isatina com a cadeia lateral do resíduo de A214. Verifica-se interação de hidrogênio não clássica através da subunidade da piperidina com a carbonila do resíduo de I115-S213. Observa-se interação hidrofóbica do tipo alquila através da piperidina com a cadeia lateral do resíduo de K117.

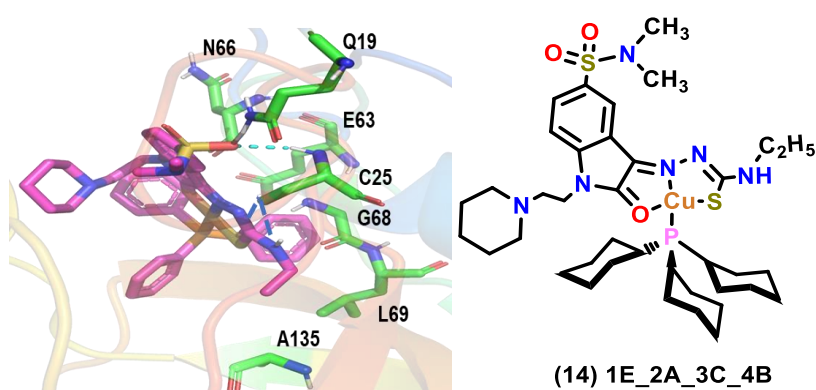


Figura 64. Interação do complexo de cobre 1E_2A_3C_4B (**14**) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

A carbonila da subunidade sulfonamida representado na **Figura 64**, realiza interação de hidrogênio clássica com a amida do resíduo de Q19, o mesmo ocorre com a função amina do resíduo de C25. O anel aromático da isatina realiza interação do tipo π -enxofre com o resíduo de C25. Ocorre interação hidrofóbica do tipo alquila a partir da etila substituída da amina da tiossemicarbazona com o grupo alquila do resíduo de 135. Verifica-se interação de hidrogênio não clássica através da etila substituída da tiossemicarbazona com a carbonila do resíduo de 68. O mesmo ocorre com a subunidade piperidina com o resíduo de N66. Observa-se interação de hidrogênio clássica através da amina da tiossemicarbazona com o resíduo de C25. O anel aromático pertencente a fosfina realiza interação hidrofóbica do tipo π -alquila com o grupo alquila do resíduo de L69. Ocorre interação eletrostática do tipo π -anión através da trifenilfosfina com hidroxila do resíduo do E63

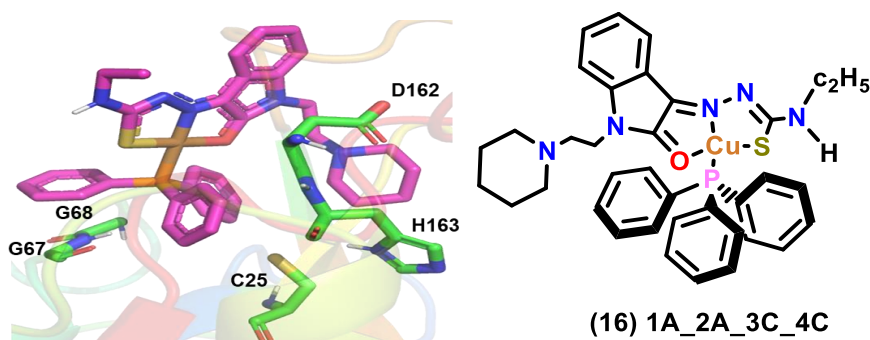


Figura 65. Interação do complexo de cobre 1A_2A_3C_4C (**16**) com os resíduos de aminoácidos.

Na **Figura 65**, verifica-se interação hidrofóbica do tipo π -alquila através da subunidade da piperidina com o anel imidazólico pertencente a H163. Observa-se interação de hidrogênio não clássica através da subunidade da piperidina com a hidroxila do resíduo do D162. O resíduo de aminoácido de C25 faz interação do tipo π -enxofre com o anel aromático da trifenilfosfina. Verificou-se interação hidrofóbica do tipo empilhamento amida- π através da trifenilfosfina com o resíduo de G67-G68. Observa-se interação eletrostática do tipo anión- π através dos anéis da isatina com o resíduo de D162.

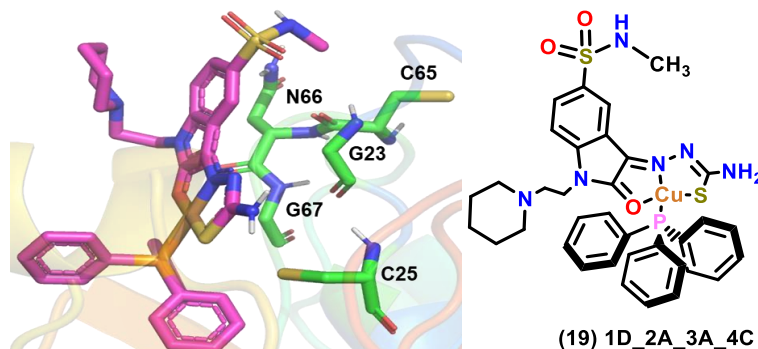


Figura 66. Interação do complexo de cobre 1D_2A_3A_4C (**19**) com os resíduos de aminoácidos.

A cadeia lateral do resíduo de C25, apresentada na **Figura 66** faz interação hidrofóbica do tipo π -alquila com os anéis aromáticos da trifenilfosfina. A carbonila pertencente ao resíduo de C25 realiza interação de hidrogênio não clássica com a metila da amida da subunidade da sulfonamida. Verifica-se interação de hidrogênio não clássica através da subunidade da piperidina com a carbonila do resíduo de N66, adicionalmente a partir da a imina pertencente a tiossemicarbazona observa-se interação de hidrogênio não clássica com o resíduo de G23, a mesma interação verifica-se com a carbonila da isatina com o resíduo de G67.

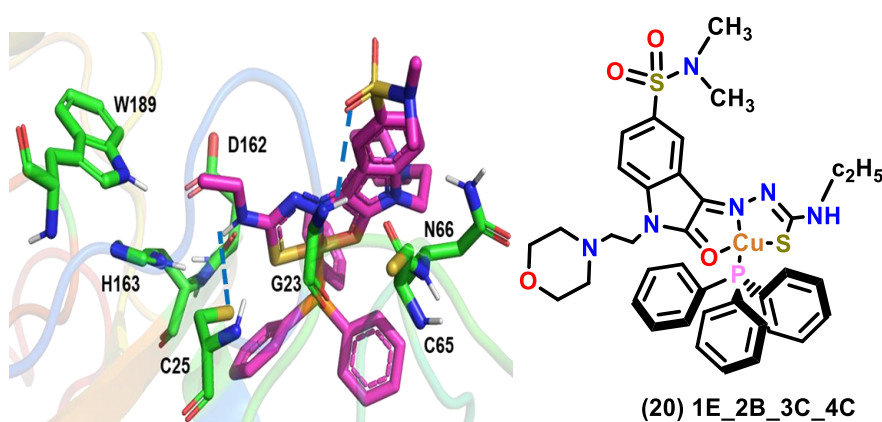


Figura 67. Interação do complexo de cobre 1E_2B_3C_4C (**20**) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

Com base os resultados apresentados na **Figura 67**, pode observar interação de hidrogênio clássica através da carbonila pertencente a subunidade sulfionamida com a função amina do resíduo de G23. A metila substituída da amida da subunidade sulfonamida realiza interação de hidrogênio não clássica com o resíduo de C65. O mesmo verifica-se com a subunidade substituída da morfolina para com resíduo de N66. Observa-se interação hidrofóbica do tipo sigma- π através do anel da isatina com o

resíduo de N66. Verifica-se interação de hidrogênio clássica através da amina substituída da tiossemicarbazona com o resíduo de C25. A cadeia lateral do resíduo de aminoácido de C25, faz interação hidrofóbica do tipo alquila, através da etila substituída da tiossemicarbazona. A etila substituída da tiossemicarbazona, realiza interação hidrofóbica do tipo π -alquila com o anel de cinco membros pertencente ao resíduo do W189 e H163. Ocorre interação hidrofóbica do tipo empilhamento amida- π através dos anéis aromáticos da trifenilfosfina com o resíduo de H163-D162.

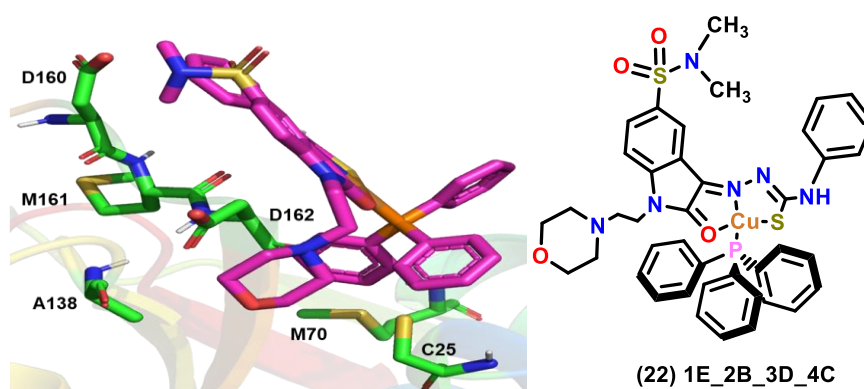


Figura 68. Interação do complexo de cobre 1E_2B_3D_4C (**22**) com os resíduos de aminoácidos.

Com base nos resultados da **Figura 68**, verifica-se interação de hidrogênio não clássica através da metila substituída da subunidade sulfonamida com o resíduo de D160. Observa-se interação hidrofóbica do tipo empilhamento amida- π através da anilina substituída da tiossemicarbazona com o resíduo do D160-M161. Verifica-se interação eletrostática do tipo anion- π através dos anéis pertencentes a isatina com o resíduo de D162. O resíduo de aminoácido de D162 faz interação de hidrogênio não clássica com a subunidade da morfolina, o mesmo acontece com o resíduo de A138. Ocorre interação hidrofóbica do tipo alquila através da morfolina com a cadeia lateral do resíduo de A138. A cadeia lateral do resíduo de C25, faz interação hidrofóbica do tipo π -alquila com o anel aromático da trifenilfosfina. Verifica-se interação do tipo π -enxofre através do trifenilfosfina com o resíduo de M70. Observa-se interação de hidrogênio não clássica através da trifenilfosfina com o resíduo de C25.

Com base nos resultados obtidos de ancoragem molecular no sítio ativo da catepsina L, foi possível observar subunidades estruturais de complexos de cobre II triados previamente no sítio ativo do ATP. Os padrões que forneceram maior número de

interações com os resíduos de aminoácidos no sítio ativo da catepsina L, estão destacadas na **Figura 69**:

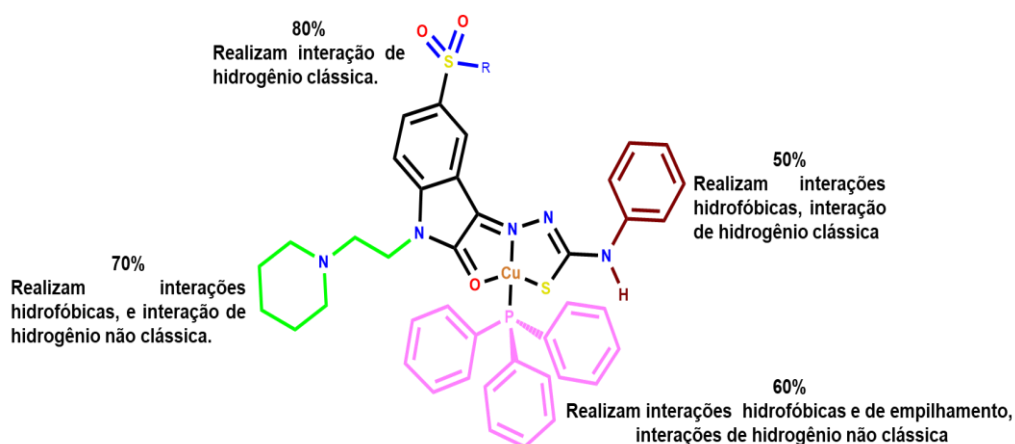


Figura 69. Padrões de substituintes do complexo de cobre II que foram triados no sítio ativo do ATP, e que demonstraram maior número de interações no sítio ativo da catepsina L.

Os padrões de substituintes de complexo de cobre II que apresentaram maior número de interações no sítio ativo do ATP, no sítio da catepsina L, os padrões que apresentaram maiores interações com os resíduos do sítio ativo contêm como substituintes: 80% a sulfonas (azul), 50% a amina substituída com anel aromático (marrom), 70% a piperidina (verde) e 60% a trifenílfosfina (pink). Este padrão, está relacionado com a presença do grupo doador e aceptor de ligação de hidrogênio, interações hidrofóbicas e eletroestáticas do tipo de empilhamento- π e empilhamento-T que os anéis aromáticos realizam, interações do tipo π -enxofre e interações de hidrogênio não clássica do tipo $\pi \cdots H-C$ com os orbitais π que acumulam concentrações de carga nos anéis aromáticos e ainda, a presença do substituinte N-heterocíclico possibilitou interação hidrofóbica do tipo π -alquila (FOKOUÉ et al., 2020; OLIVEIRA, 2016).

5.7) Resultados da ancoragem molecular da catepsina L complexada com a substância de código ChemBL de 424 derivados de complexo de cobre que se encaixaram melhor no sítio ativo do etoposídeo.









Realizou-se a análise das interações dos resíduos de aminoácidos através do ranqueamento dos valores de pontuação gerados por meio da ancoragem molecular. Depois do ranqueamento, foram obtidas as poses de complexos (cobre e paládio) gerados pela função pontuação GoldScore. Em seguida, foram escolhidas as melhores

20 poses de complexo de cobre e 12 complexos de paládio as que apresentaram maior número de interações com os resíduos do sítio ativo, assim como os que apresentaram maiores valores de pontuação na função de pontuação validada para catepsina L. Para estes, foi realizada a análise criteriosa das interações de complexos de cobre no sítio ativo da catepsina L, onde os resultados estão representados na **Tabela 9**.

Tabela 9. Interação dos 10 melhores complexos de cobre, que apresentaram melhores interações ao sítio do etoposídeo frente aos resíduos de aminoácidos da catepsina L (PDB ID: 2XU1).

LIGANTE	GoldScore	Nº de Interações	A135	A214	D162	C25	Q19	G61	G67	H163	G68	N66	M161
2XU1													
1B_2B_3D_4A	60,12	5											
1D_2B_3D_4C	74,31	4											
1B_2A_3D_4A	60,58	4											
1E_2C_3D_4C	80,42	3											
1C_2A_3D_4C	72,65	3											
1D_2A_3D_4C	73,44	3											
1A_2B_3D_4C	68,58	3											
1D_2C_3D_4C	84,09	2											
1A_2A_3D_4C	60,32	1											

LIGANTE	GoldScore	Nº de Interações	M70	L69	W189	Q21	G20	D160	G23	E159	E63	G68-L69	D162-H163	W26
2XU1														
1B_2B_3D_4A	60,12	5												
1D_2B_3D_4C	74,31	4												
1B_2A_3D_4A	60,58	3												
1E_2C_3D_4C	80,42	3												
1C_2A_3D_4C	72,65	3												
1D_2A_3D_4C	73,44	3												
1A_2B_3D_4C	68,58	3												
1D_2C_3D_4C	84,09	2												
1A_2A_3D_4C	60,32	1												

 Ligação de hidrogênio clássica.	 Ligação (π - enxofre)	 Hidrofóbica (empilhamento π)
 Ligação de hidrogênio não clássica.	 Ligação π solitário	 Hidrofóbica (π -alquila, alquila-alquila)
 Ligação electrostática	 Hidrofóbica (Sigma- π)	

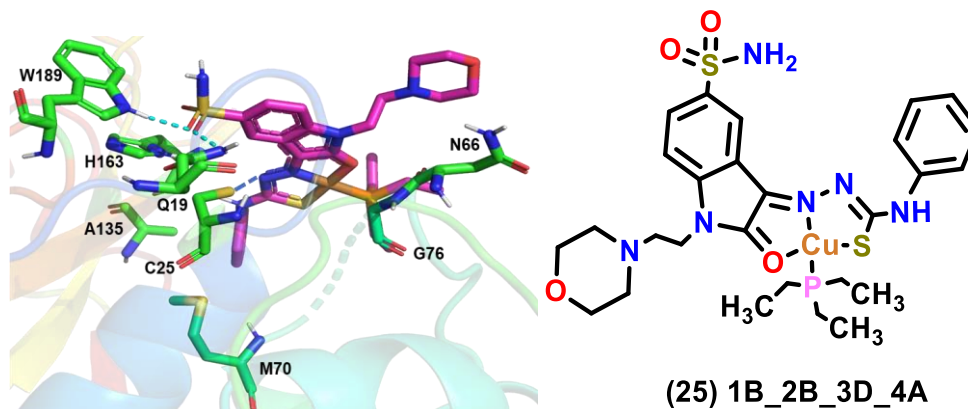


Figura 70. Interação do complexo de cobre 1B_2B_3D_4A (**25**) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

Com base na **Figura 70**, a carbonila da subunidade da sulfonamida, realiza interação de hidrogênio clássica com a função amida do resíduo de Q19, o mesmo tipo de interação, verifica-se também com o anel de cinco membros do resíduo do W189. Adicionalmente, a partir do anel imidazólico do resíduo de H163, ocorre interação de hidrogênio não clássica com a carbonila da sulfonamida, o mesmo resíduo, realiza interação do tipo π -solitário entre a carbonila da sulfonamida com o anel de cinco membros da H163. O anel aromático da isatina, faz interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do grupo alquila do resíduo de C25. O nitrogênio da base da tiossemicarbazona faz interação de hidrogênio clássica com o tiol do resíduo de C25. A anilina substituída da tiossemicarbazona faz interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do grupo alquila do resíduo de A135, por outro lado, a mesma função orgânica da anilina, realiza interação do tipo π -enxofre com o resíduo de M70. O oxigênio da base da isatina, interagem com o resíduo de G67 a partir de interação de hidrogênio não clássica. A morfolina pertencente ao complexo, realiza interação de hidrogênio não clássica com a carbonila do resíduo de N66. O resíduo de H163, interagem com o nitrogênio da base da tiossemicarbazona através de ligação de hidrogênio não clássica.

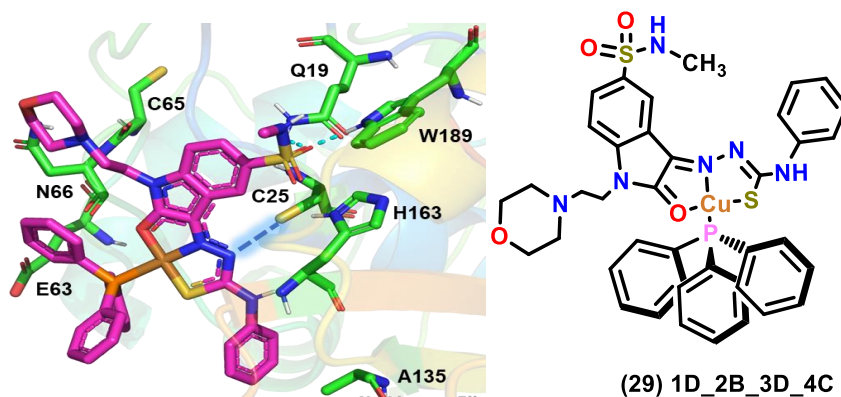


Figura 71. Interação do complexo de cobre 1D_2B_3D_4C (**29**) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

Na **Figura 71**, observou-se que a carbonila da subunidade da sulfonamida, interagem com amida do resíduo de Q19 por ligação de hidrogênio clássica, paralelamente, a mesma interação foi verificada com o anel de cinco membros do resíduo do W189. A anilina substituída da tiossemicarbazona realiza interação hidrofóbica do tipo π -alquila através da cadeia lateral do resíduo de A135, a mesma interação, acontece com o resíduo de C25. Verificou-se ligação de hidrogênio clássica através do nitrogênio da base da tiossemicarbazona com o grupo tiol do resíduo de C25. A subunidade imidazólico do resíduo de H163, liga-se a carbonila da sulfonamida por ligação de hidrogênio não clássica. O resíduo do W189, interagem com a sulfonamida através de interação π -enxofre. A morfolina substituída na isatina, faz interação de hidrogênio não clássica com a carbonila do resíduo de C65. Ocorre interação tipo π -solitário através da trifenilfosfina com a carbonila do resíduo de N66. Verifica-se interação eletrostática do tipo anion- π a partir da trifenilfosfina com a hidroxila do resíduo do E63.

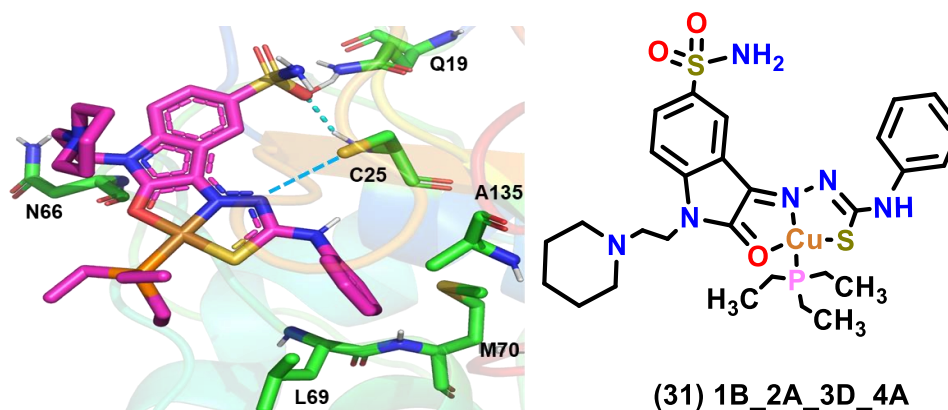


Figura 72. Interação de complexo de cobre 1B_2A_3D_4A (**31**) com o resíduo de aminoácidos. Interações. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

A carbonila da subunidade da sulfonamida presente **Figura 72**, faz interação de hidrogênio clássica com amida do resíduo de Q19, o mesmo tipo de interação ocorre a

partir da função amina do resíduo de C25 com a carbonila da sulfonamida. O nitrogênio da base da tiossemicarbazona interage com o tiol do resíduo de C25 por uma ligação de hidrogênio. O resíduo de C25 liga-se com o anel aromático pertencente a isatina por ligação do tipo π -enxofre. Entre a piperidina com a carbonila do resíduo de N66, interagem por ligação de hidrogênio não clássica. A anilina substituída na tiossemicarbazona faz interação hidrofóbica do tipo π -alquila através da cadeia lateral do resíduo de A135, o mesmo verificou-se com os resíduos da M70 e L69. Adicionalmente, a cadeia lateral do resíduo da L69 participa de uma interação hidrofóbica do tipo alquila através da trietilfosfina.

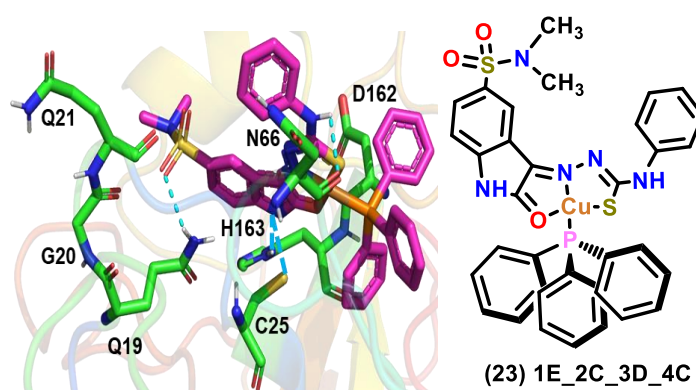


Figura 73. Interação do complexo de cobre 1E_2C_3D_4C (**23**) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

Com base no resultado mostrado na **Figura 73**, a carbonila da subunidade da sulfonamida, realiza interação de hidrogênio clássica com a função amida do resíduo de Q19, a mesma função orgânica do ligante (carbonila), faz interação de hidrogênio não clássica com amida do resíduo de Q21. Adicionalmente, a metila substituída da sulfonamida interagem com a carbonila do resíduo de G20 através de interação de hidrogênio não clássica. Os anéis da base da isatina, realizam interação hidrofóbica do tipo π -alquila como o grupo alquila do resíduo de C25. O anel de cinco membros pertencente a isatina, liga-se ao anel imidazólico do resíduo de H163, por ligação de hidrogênio clássica. Paralelamente, o anel de cinco membros pertencente a isatina e o resíduo de H163, interagem através de ligação de hidrogênio não clássica. O resíduo de N66 faz interação de hidrogênio clássica com a amina substituída da tiossemicarbazona, a partir da função amida do resíduo de N66 com a anilina substituída da tiossemicarbazona, acontece interação de hidrogênio não clássica do tipo π -doador. Ocorre interação hidrofóbica do tipo π - σ através do anel aromático da anilina com o grupo alquila do resíduo de N66. O anel aromático da trietilfosfina, realiza interação hidrofóbica do tipo empilhamento amida- π com os resíduos do D162-H163.

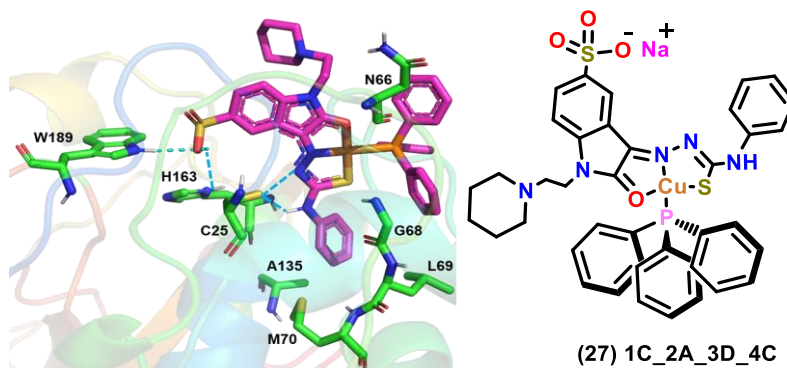


Figura 74. Interação do complexo de cobre 1C_2A_3D_4C (**27**) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

A carbonila da subunidade sulfonamídica ilustrada na **Figura 74**, faz interação de hidrogênio clássica com o anel de cinco membros pertencente ao resíduo do W189 e com o anel imidazólico do resíduo de H163. A subunidade da sulfona, realiza interação do tipo π -enxofre com o anel de cinco membros pertencente ao resíduo de W189. A carbonila da sulfonamida liga-se ao anel imidazólico do resíduo H163 através de interação de hidrogênio não clássica. Existe uma interação através do grupo tiol do resíduo de C25 do tipo π -enxofre, com o anel aromático pertencente a isatina, o mesmo acontece com anilina substituída da tiossemicarbazona com o resíduo de M70. Ocorre interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do grupo alquila do resíduo de A135 com a anilina substituída da tiossemicarbazona. O anel aromático da trifenilfosfina faz interação do tipo π -solitário com a carbonila do resíduo de N66. Adicionalmente, verificou-se uma interação hidrofóbica do tipo empilhamento amida- π através do anel aromático da trifenilfosfina com o resíduo de G68 e L69.

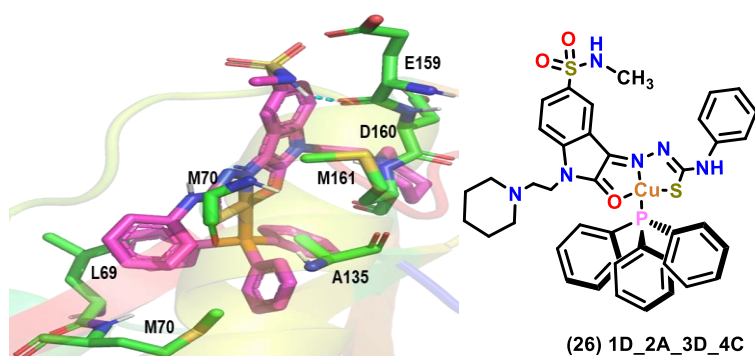


Figura 75. Interação do complexo de cobre 1D_2A_3D_4C (**26**) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

O resultado apresentado na **Figura 75**, mostrou que existe uma interação de hidrogênio clássica entre a carbonila do resíduo do E159 com a amida da sulfonamida, o mesmo resíduo, através da carbonila realiza interação do tipo π -solitário com o anel

aromático pertencente a isatina. A amida do resíduo de M161 faz interação de hidrogênio não clássica do tipo π -doador com o anel de cinco membros pertencente a isatina. A hidroxila do resíduo do D160, liga-se a subunidade da piperidina a partir de uma interação de hidrogênio não clássica. As cadeias laterais dos resíduos de A135 e A214, fazem interação hidrofóbica do tipo π -alquila com o anel aromático substituída da tiossemicarbazona, o mesmo acontece com a cadeia lateral do resíduo de L69. Adicionalmente, ocorre interação do tipo π -enxofre, através do resíduo de M70 com a anilina substituída da tiossemicarbazona.

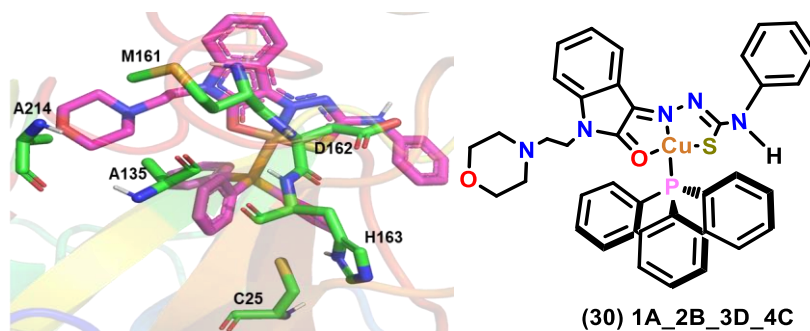


Figura 76. Interação do complexo de cobre 1A_2B_3D_4C (**30**) com os resíduos de aminoácidos.

Com base na figura **Figura 76**, os anéis aromáticos pertencentes a trifenilfosfina realizam interação hidrofóbica do tipo π -alquila com a cadeia lateral do resíduo de C25. Adicionalmente, verifica-se uma interação hidrofóbica do tipo empilhamento amida- π através da trifenilfosfina com os resíduos do D162-H163. A carbonila do resíduo de M161, faz uma interação do tipo π -solitário com o anel de cinco membros pertencente a isatina, paralelamente, a carbonila do resíduo de M161, realiza interação de hidrogênio não clássica com a subunidade alquila da morfolina substituída. Adicionalmente, acontece interação hidrofóbica do tipo alquila através da morfolina substituída com o grupo alquila do resíduo de A135 e 214.

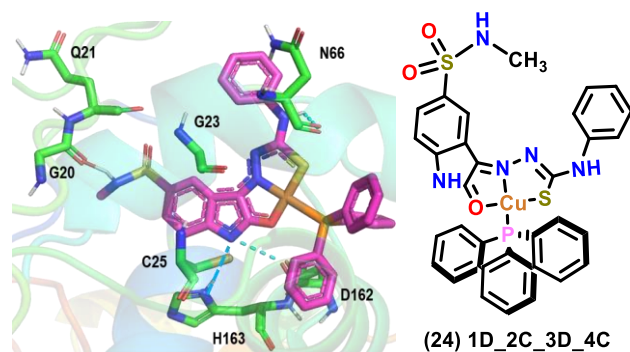


Figura 77. Interação do complexo de cobre 1D_2C_3D_4C (**24**) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

Os resultados apresentados na **Figura 77**, mostram a ocorrência de uma interação de hidrogênio clássica através da carbonila do resíduo de N66 com a amina substituída da tiossemicarbazona, adicionalmente, a anilina substituída da tiossemicarbazona realiza interação de hidrogênio não clássica do tipo π -doador com a amida do resíduo de N66. Por outro lado, o anel aromático da trifenilfosfina realiza interação hidrofóbica do tipo empilhamento amida- π com os resíduos de D162-H163. A cadeia lateral do resíduo de C25 realiza interação hidrofóbica do tipo π -alquila com os anéis pertencentes a isatina. Ocorre interação de hidrogênio clássica através da amida da subunidade sulfonamida com a carbonila do resíduo de G20. A carbonila da sulfonamida faz interação de hidrogênio não clássica com o resíduo de Q21. A partir do átomo de nitrogênio do anel de cinco membros pertencente a isatina, verifica-se interação de hidrogênio clássica através da carbonila do resíduo de D162 e do anel imidazólico do resíduo de H163.

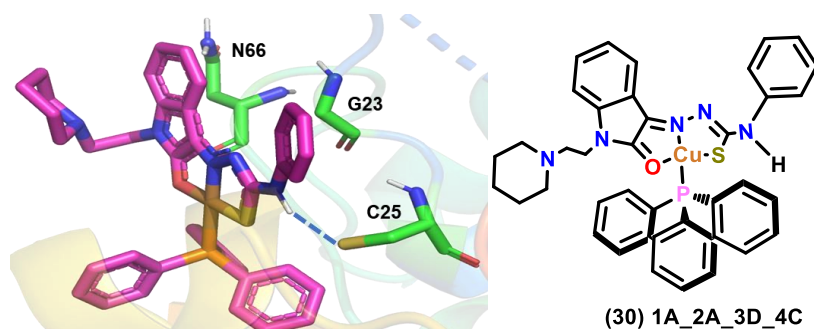


Figura 78. Interação do complexo de cobre 1A_2A_3D_4C (**30**) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

A amina substituída da tiossemicarbazona, faz interação de hidrogênio clássica com o grupo tiol do resíduo de C25, como mostrado na **Figura 78**. O anel aromático pertencente a isatina, realiza interação de hidrogênio não clássica do tipo π -doador com a amida do resíduo de N66. Ocorre interação hidrofóbica do tipo sigma- π através do anel aromático pertencente a isatina com o resíduo de N66. Verificou-se interação de

hidrogênio não clássica através do átomo de nitrogênio pertencente a base da tiossemicarbazona com o resíduo de G23.

Com base nos resultados obtidos através dos complexos de cobre com os resíduos de aminoácidos do sítio ativo da catepsina L, foi possível observar subunidades estruturais que forneceram maior número de interações com os resíduos de aminoácidos no sítio ativo, sendo estas destacadas a seguir na **Figura 79**:

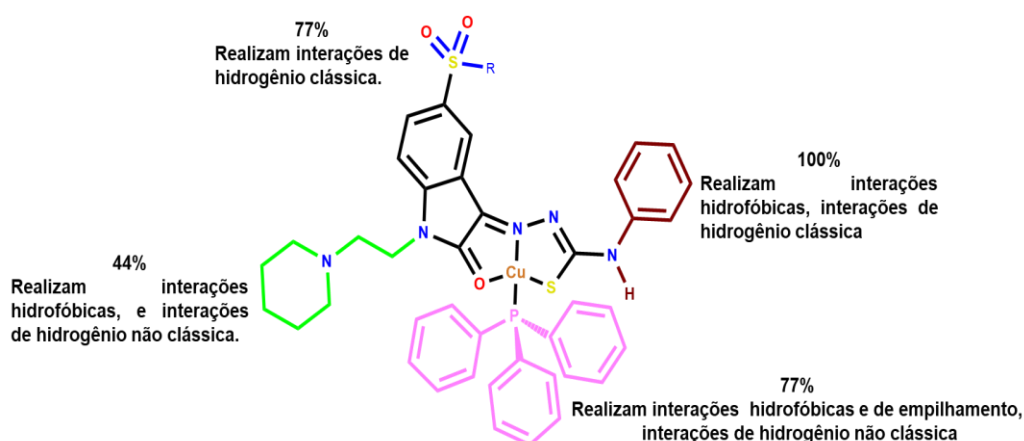


Figura 79. Padrões de substituintes do complexo de cobre II que foram triados no sítio ativo do etoposídeo, e que demonstraram maior número de interações no sítio ativo da catepsina L.

Os padrões de substituintes de complexo de cobre II que apresentaram maior número de interações com o sítio ativo do etoposídeo, quando ancorados no sítio ativo da catepsina L, os padrões que apresentaram maiores interações com os resíduos contêm como substituintes: 77% a sulfonas (azul), 100% a amina substituída com anel aromático (marrom), 44% a piperidina (verde) e 77% a trifetilfosfina (pink). Este padrão, está relacionado com a presença do grupo doador e aceptor de ligação de hidrogênio, interações hidrofóbicas e eletrostáticas do tipo de empilhamento- π e empilhamento-T que os anéis aromáticos realizam, interações do tipo π -enxofre e interações de hidrogênio não clássica do tipo $\pi \cdots H-C$ com os orbitais π que acumulam concentrações de carga nos anéis aromáticos e ainda, a presença do substituinte N-heterocíclico possibilitou interação hidrofóbica do tipo π -alquila (FOKOUÉ et al., 2020; OLIVEIRA, 2016).

5.8) Resultados da ancoragem molecular do sítio ativo da topo II alfa co-cristalizada com ATP, derivados de complexo de paládio II.

Realizou-se a análise das interações dos resíduos de aminoácidos através do ranqueamento dos valores de pontuação gerados por meio da ancoragem molecular.

Depois do ranqueamento, foram obtidas as poses de complexos (cobre e paládio) gerados pela função pontuação GoldScore. Em seguida, foram escolhidas 10 melhores poses de complexo de cobre e 12 complexos de paládio, que apresentaram maior número de interações com os resíduos do sítio ativo, assim como os que apresentaram maiores valores de pontuação na função de pontuação validada para as topo II alfa. Para estes, foi realizada a análise criteriosa das interações de complexos de paládio no sítio ativo da enzima, onde os resultados estão representados na **Tabela 10**.

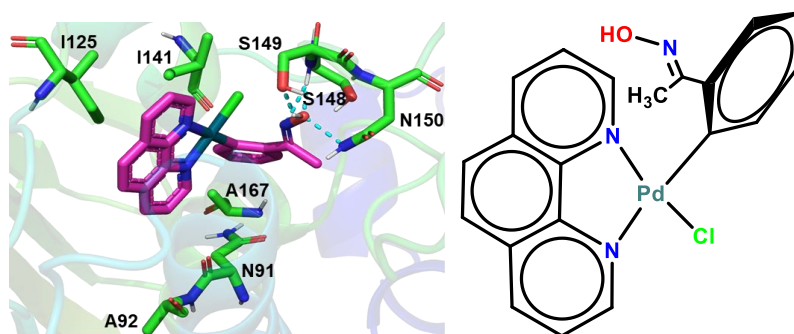


Figura 80. Interação do complexo de paládio Fen_CH₃_Cl (8) com os resíduos de aminoácidos do sítio da ATP. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

Os anéis aromáticos da fenantrolina representados na **Figura 80**, fazem interação hidrofóbica do tipo π -alquila com a cadeia lateral do resíduo de I125. Paralelamente, verifica-se interações de tipo amida- π , através da fenantrolina com os resíduos de aminoácidos de A92-N91. Adicionalmente, o anel aromático da fenantrolina, realiza interação do tipo empilhamento T com o anel aromático do resíduo F142. O anel aromático da benzaldoxima, faz interação hidrofóbica do tipo π -alquila com a cadeia lateral do resíduo de A167. A hidroxila da subunidade benzaldoxima, liga-se a função amida dos resíduos da N150 e S149 através de ligação de hidrogênio clássica, o mesmo verifica-se com a hidroxila do resíduo de S148. O nitrogênio pertencente ao ligante benzaldoxima, faz interação de hidrogênio não clássica com o resíduo de S148.

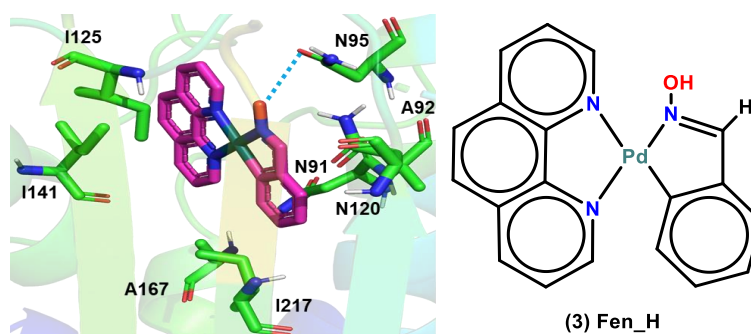


Figura 81. Interação do complexo de paládio Fen_H (3) com os resíduos de aminoácidos do sítio da ATP. Interação de hidrogênio clássica está representada em azul.

Com base na **Figura 81**, pode-se observar uma interação de hidrogênio clássica através da hidroxila do complexo com a carbonila do resíduo de N95. Adicionalmente, a partir do resíduo N120 acontece interação de hidrogênio não clássica com hidrogênio substituído do ligante 3-metil-2,4-dihidro-1H-isoindol-2-ol. Verificou-se interação hidrofóbica do tipo amida- π através do anel aromático pertencente ao ligante 3-metil-2,4-dihidro-1H-isoindol-2-ol com os resíduos da N91-A92. Ocorre interação hidrofóbica do

tipo π -alquila através do anel aromático pertencente ao 3-metil-2,4-dihidro-1H-isoindol-2-ol com o resíduo de I217. O anel aromático da fenantrolina faz interação hidrofóbica do tipo π -alquila com a cadeia lateral do resíduo de A167, o mesmo verificou-se com o resíduo de I125 e I141. O resíduo de I141 realiza interação hidrofóbica do tipo sigma- π com o anel aromático da fenantrolina.

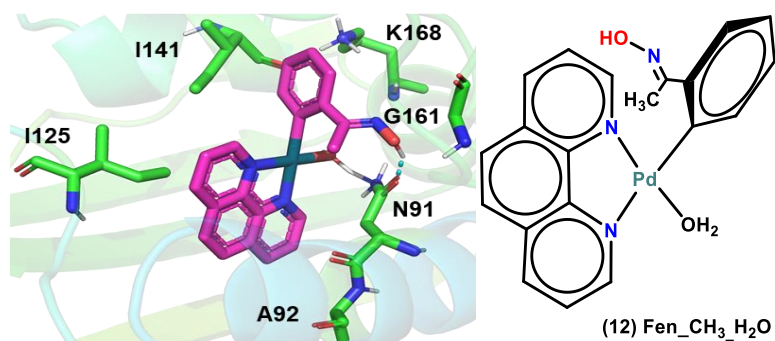


Figura 82. Interação do complexo de paládio Fen_CH₃_H₂O (**12**) com os resíduos de aminoácidos do sítio de ATP. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

A hidroxila substituída da benzaldoxima realiza interação de hidrogênio clássica com a carbonila do resíduo de N91 como mostrado na **Figura 82**. Adicionalmente, verifica-se uma interação de hidrogênio não clássica através da hidroxila do ligante benzaldoxima com o resíduo de G161. O anel aromático da benzaldoxima realiza interação eletrostática do tipo cátion- π com o resíduo de K168. A cadeia lateral do resíduo de I141, faz interação hidrofóbica do tipo π -alquila com o anel aromático da benzaldoxima, o mesmo verifica-se através do ligante fenantrolina com a cadeia lateral do resíduo de I125. Os resíduos de aminoácidos da N191-A92, fazem interação hidrofóbica do tipo amida- π com a fenantrolina.

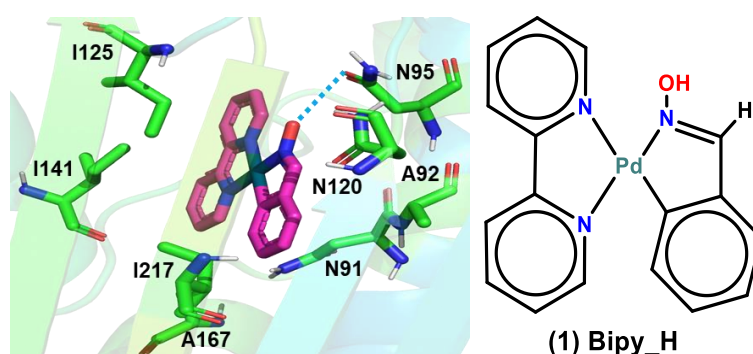


Figura 83. Interação do complexo de paládio bipy_H (**1**) com os resíduos de aminoácidos do sítio da ATP. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

Com base na **Figura 83**, pode-se verificar uma interação de hidrogênio clássica a partir da hidroxila pertencente ao ligante 3-metil-2,4-dihidro-1H-isoindol-2-ol com a

carbonila do resíduo de N95. A carbonila do resíduo de N120, realiza interação de hidrogênio não clássica com o átomo de hidrogênio substituído do 3-metil-2,4-dihidro-1H-isoindol-2-ol. O anel aromático do ligante 3-metil-2,4-dihidro-1H-isoindol-2-ol, faz interação do tipo amida- π com os resíduos da N91-A92. Adicionalmente, ocorre interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do anel aromático de 3-metil-2,4-dihidro-1H-isoindol-2-ol com o grupo alquila do resíduo de I217. Através da subunidade da bipyridina, acontece interação hidrofóbica do tipo π -alquila com a cadeia lateral do resíduo de I125, o mesmo acontece com o resíduo de A167 e o resíduo de I141.

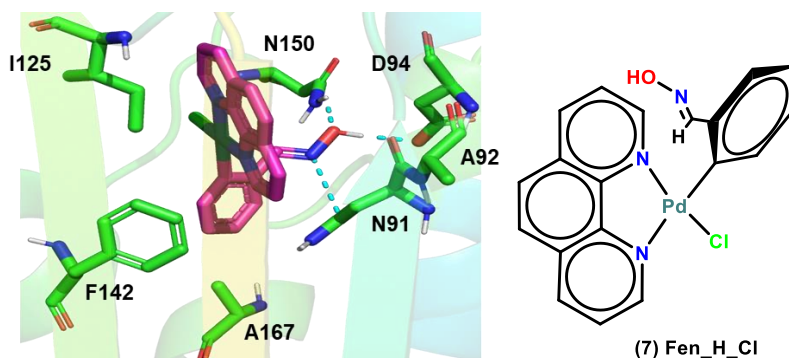


Figura 84. Interação do complexo de paládio Fen_H_Cl (**7**) com os resíduos de aminoácidos do sítio ativo de ATP. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

Com base na **Figura 84**, observa-se que a hidroxila da subunidade benzaldoxima, faz interação de hidrogênio clássica com o grupo amida do resíduo de aminoácido de N150, adicionalmente, a carbonila do resíduo de aminoácido N91, realiza interação de hidrogênio clássica com a hidroxila do ligante, o mesmo, verifica-se com a hidroxila do resíduo de aminoácido de D94. O anel aromático do ligante benzaldoxima interagem com a cadeia lateral do resíduo de aminoácido de A167 através da interação hidrofóbica do tipo π -alquila. Acontece interação hidrofóbica do tipo empilhamento T através do anel aromático da benzaldoxima com o resíduo de aminoácido de F142. Os resíduos de aminoácido de A92-N91 fazem interação hidrofóbica do tipo amida- π com os anéis aromáticos da fenantrolina. Ocorre interação hidrofóbica do tipo sigma- π através da fenantrolina com a cadeia lateral do resíduo de aminoácido N91. O resíduo de aminoácido I125 participa de uma interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do anel aromático da fenantrolina.

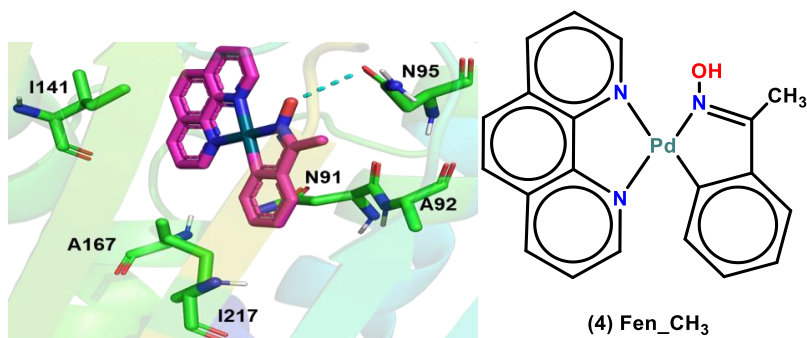


Figura 85. Interação do complexo de paládio Fen_CH₃ (**4**) com os resíduos de aminoácidos do sítio ativo de ATP. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

Na **Figura 85**, observa-se uma ligação de hidrogênio clássica através da hidroxila do ligante 3-metil-2,4-dihidro-1H-isoindol-2-ol, com a carbonila do resíduo de aminoácido de N95. Os resíduos de aminoácidos de N91-A92 realizam interação hidrofóbica do tipo amida- π com o anel aromático do ligante 3-metil-2,4-dihidro-1H-isoindol-2-ol, paralelamente, o mesmo anel aromático, faz interação hidrofóbica do tipo π -alquila com a cadeia lateral do resíduo de aminoácido de I217. Os anéis aromáticos da fenantrolina, participam de interações hidrofóbicas do tipo π -alquila com as cadeias laterais de resíduos de aminoácidos de A167 e I141. Adicionalmente, ocorre interação Hidrofóbica do tipo sigma- π através da fenantrolina com o resíduo de aminoácido de I141.

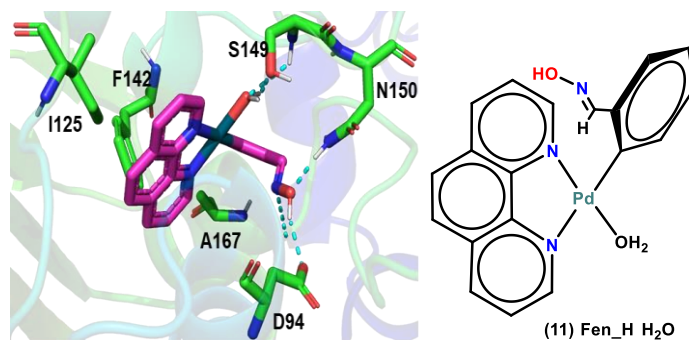


Figura 86. Interação do complexo de paládio Fen_H_H₂O (**11**) com os resíduos de aminoácidos do sítio de ATP. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

Com base na **Figura 86**, a hidroxila e a amina do resíduo de aminoácido de S149, realizam interações de hidrogênio clássica com a molécula da água do complexo. Adicionalmente, a hidroxila substituída da benzaldoxima, faz interação de hidrogênio clássica com amida do resíduo de aminoácido de N150, o mesmo ocorre com a hidroxila do resíduo de aminoácido de D94. Verifica-se interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do anel aromático da benzaldoxima com a cadeia lateral do resíduo de

aminoácido de A167. Ocorre interação de hidrogênio não clássica através da fenantrolina com o resíduo de aminoácido de S149. Os anéis aromáticos da fenantrolina fazem interação hidrofóbica do tipo π -alquila com a cadeia lateral do resíduo de aminoácido de I125. Adicionalmente, o anel aromático da fenantrolina, faz interação de empilhamento T com o resíduo de aminoácido de F142.

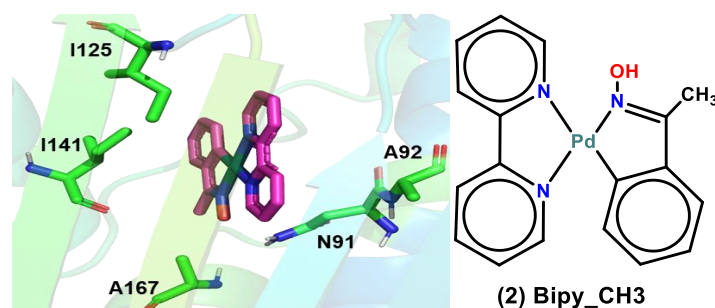


Figura 87. Interação do complexo de paládio bipy_CH₃ (**2**) com os resíduos de aminoácidos do sítio da ATP.

Na **Figura 87**, observa-se que a metila substituída no ligante 3-metil-2,4-dihidro-1H-isoindol-2-ol, realiza interação hidrofóbica do tipo alquila, com a cadeia lateral do resíduo de aminoácido de A167. Adicionalmente, o anel aromático pertencente ao ligante 3-metil-2,4-dihidro-1H-isoindol-2-ol faz interação hidrofóbica do tipo sigma- π com o resíduo de aminoácido del141. Ocorre interação hidrofóbica do tipo amida- π , através do anel aromático da bipyridina com os resíduos de N91-A92. O resíduo de aminoácido de I125, liga-se interagem a bipyridina através interação hidrofóbica do tipo π -alquila

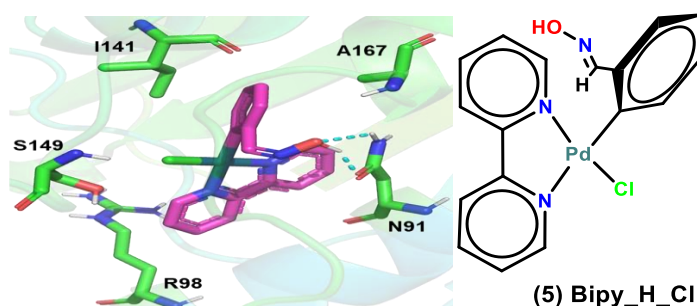


Figura 88. Interação do complexo de paládio bipy_H_Cl (**5**) com os resíduos de aminoácidos do sítio da ATP. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

Analisando a **Figura 88**, pode-se observar que acontece interação de hidrogênio clássica através da hidroxila pertencente benzaldoxima com a carbonila do resíduo de N91. O anel aromático da benzaldoxima realiza interação hidrofóbica do tipo sigma- π com os resíduos de aminoácidos de N91-A92. Ocorre interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do anel aromático da benzaldoxima com o grupo alquila do resíduo de

I141, o mesmo verifica-se com o resíduo de aminoácido de A167. Adicionalmente, através do anel aromático da bipyridina, acontece interação hidrofóbica do tipo π -alquila com o resíduo de aminoácido de R98. Finalmente, o resíduo de S149 faz interação de hidrogênio não clássica com a subunidade da benzaldoxima.

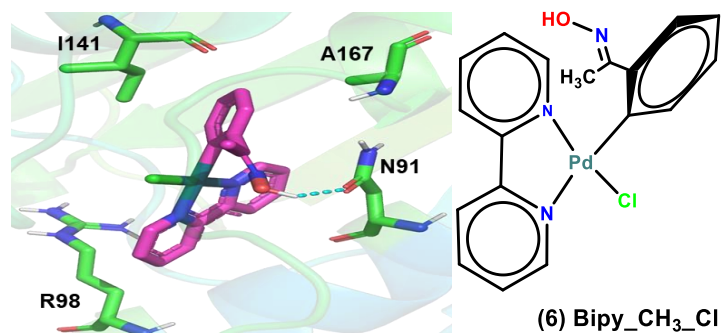


Figura 89. Interação do complexo de paládio bipy_CH₃_Cl (**6**) com os resíduos de aminoácidos do sítio de ATP. Interações de hidrogênio estão representadas azul.

Com base na **Figura 89**, observou-se uma interação de hidrogênio clássica através da hidroxila pertencente benzaldoxima a carbonila do resíduo de N91. Ocorre interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do anel aromático da benzaldoxima com o grupo alquila do resíduo de I141, o mesmo acontece com o resíduo de A167. Adicionalmente, a bipyridina faz interação hidrofóbica do tipo π -alquila com a cadeia lateral do resíduo de R98.

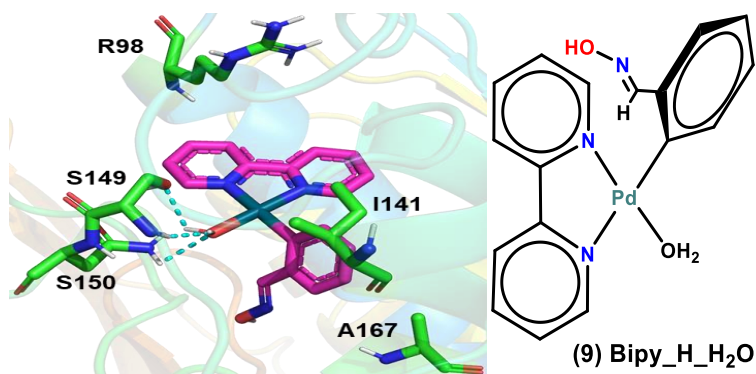


Figura 90. Interação do complexo de paládio bipy_H_H₂O (**9**) com os resíduos de aminoácidos do sítio da ATP. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

Pode-se observar **Figura 90**, que a molécula de água ligado ao complexo de paládio, faz interação de hidrogênio clássica com o resíduo de S149, o mesmo ocorre com a amida do resíduo de N150. Adicionalmente, verificou-se interação hidrofóbica do tipo π -alquila através da bipyridina com a cadeia lateral do resíduo de R98, o mesmo acontece com o anel aromático da benzaldoxima com a cadeia lateral do resíduo de aminoácido de I141 e A167.

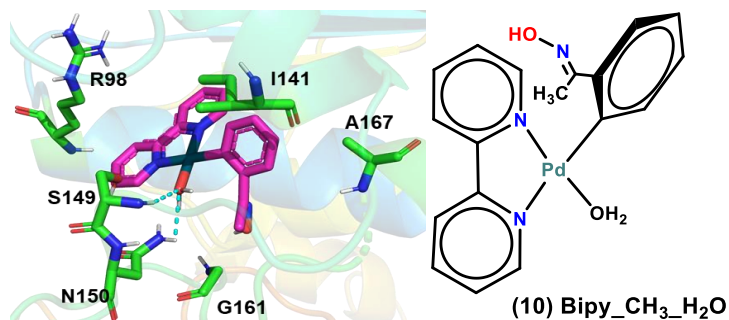


Figura 91. Interação do complexo de paládio bipy-CH₃-H₂O (**10**) com os resíduos de aminoácidos do sítio da ATP. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

A molécula da água substituída no complexo ilustrada **Figura 91**, foi possível observar que ela faz interação de hidrogênio clássica com a função amina do resíduo de S149, o mesmo interage com a função amida do resíduo de aminoácido de N150. Complementarmente, ocorre interação hidrofobia do tipo π -alquila através da bipyridina com a cadeia lateral do resíduo de aminoácido de R98. Adicionalmente, a mesma interação foi observada através da benzaldoxima com a cadeia lateral resíduo de aminoácido de I141, e A167. O resíduo de aminoácido de G161 faz interação de hidrogênio não clássica com a hidroxila pertencente a benzaldoxima.

Com base nos resultados obtidos da ancoragem molecular no sítio ativo do ATP frente aos complexos de paládio, foi possível observar padrão de subunidades estruturais que forneceram maior número de interações com os resíduos de aminoácidos do sítio ativo, sendo estas destacadas a seguir na **Figura 92**:

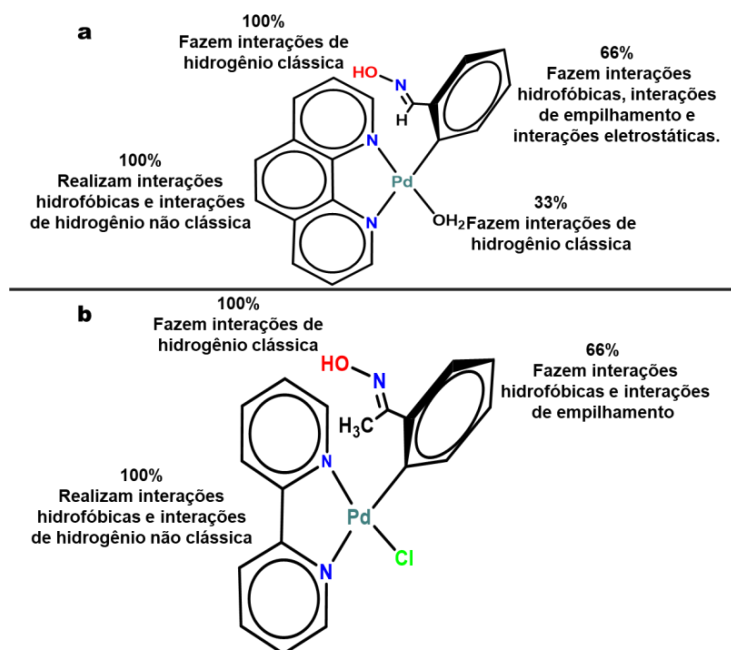


Figura 92. Padrões de substituintes do complexo de paládio II que demonstraram maior número de interações no sítio ativo da do ATP.

Os complexos de paládio (II) contendo substituintes fenantrolina **(a)** e biperidina **(b)**, no sítio de ATP os anéis aromáticos de ambos os complexos, apresentarem maior número de interações com os resíduos do sítio ativo, os anéis aromáticos de **(a)** e **(b)**, realizaram 100% interações hidrofóbicas, a hidroxila substituída representado em (vermelho) em ambos complexos, realiza 100% interações de hidrogênio clássica, o anel aromático da benzaldoxima em ambos complexo **(a)** e **(b)** realiza 66% de interações hidrofóbica e de empilhamento, o substituinte de H₂O do complexo **(a)** realiza 100% interação de hidrogênio clássica . Tal padrão está relacionado com a presença do grupo doador e aceptor de ligação de hidrogênio, interações hidrofóbicas interações do tipo π - π empilhamento e interações de hidrogênio não clássica do tipo $\pi \cdots H-C$ com os orbitais π que acumulam concentrações de carga nos anéis aromáticos(FOKOUE et al., 2020; OLIVEIRA, 2016) .







5.9) Resultados da ancoragem molecular do sítio ativo da topo II alfa co-cristalizada com ATP.

Realizou-se a análise das interações dos resíduos de aminoácidos através do ranqueamento dos valores de pontuação gerados por meio da ancoragem molecular. Depois do ranqueamento, foram obtidas as poses de complexos (cobre e paládio) gerados pela função pontuação GoldScore. Em seguida, foram escolhidas 10 melhores poses de complexo de cobre e 12 complexos de paládio, que apresentaram maior número de interações com os resíduos do sítio ativo, assim como os que apresentaram maiores valores de pontuação na função de pontuação validada para as topo II alfa. Para estes, foi realizada a análise criteriosa das interações de complexos de cobre no sítio ativo da enzima, onde os resultados estão representados na **Tabela 11**.

Tabela 11. Interação dos 10 complexos de cobre frente aos resíduos de aminoácidos do sítio de ATP (PDB ID: 1ZXM).

Ligante	ChemPLP	Nº de interações	A-										A-		A-		A-		
			N150	K168	N91	A92	S149	N95	I125	I141	R98		A167	K157		Q97			
1ZXM																			
1D_2A_3D_4A	89,73	7																	
1A_2A_3D_4A	83,46	4																	
1E_2B_3C_4C	73,16	4																	
1B_2B_3D_4C	81,29	3																	
1E_2A_3C_4B	74,88	3																	
1A_2A_3C_4C	80,01	3																	
1D_2A_3A_4C	88,14	3																	
1E_2A_3D_4A	75,13	3																	
1B_2A_3A_4C	83,04	3																	
1E_2B_3D_4C	76,18	2																	

Ligante	ChemPLP	Nº de interações	A-										A-		A-		A-		A-	
			P126	E155	G164	G166	A92	I88	I217	F142	S148	K378		N376	Y165	N120	Q376	K162	G161	N163
1ZXM																				
1D_2A_3D_4A	89,73	7																		
1A_2A_3D_4A	83,46	4																		
1E_2B_3C_4C	73,16	4																		
1B_2B_3D_4C	81,29	3																		
1E_2A_3C_4B	74,88	3																		
1A_2A_3C_4C	80,01	3																		
1D_2A_3A_4C	88,14	3																		
1E_2A_3D_4A	75,13	3																		
1B_2A_3A_4C	83,04	3																		
1E_2B_3D_4C	76,18	2																		

 Ligação de hidrogênio clássica	 Ligação electrostática	 Hidrofóbica (empilhamento π)
 Ligação de hidrogênio não clássica	 Hidrofóbica (Sigma- π)	 Hidrofóbica (π -alquila, alquila-alquila)

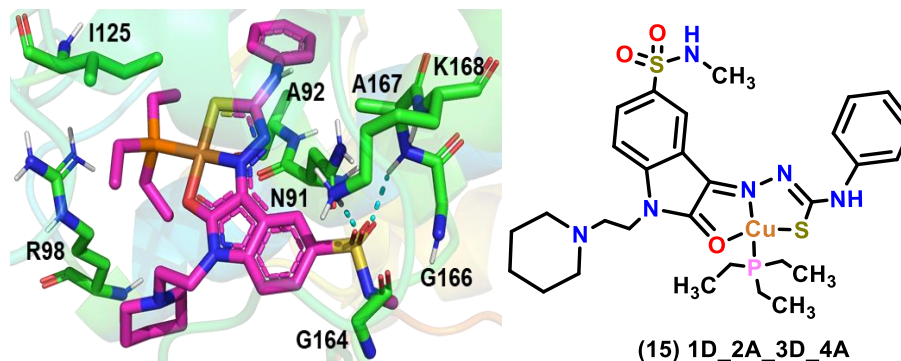


Figura 93. Interação do complexo de cobre II 1D_2A_3D_4A (**15**) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

O resultado observado na **Figura 93**, mostra que a carbonila da sulfonamida, faz interação de hidrogênio clássica com a amida do resíduo de N91, a mesma interação verifica-se com a amina do resíduo de A167. Adicionalmente, verifica-se interação de hidrogênio não clássica através da carbonila da sulfonamida com o resíduo de aminoácido de G166, a mesma interação, acontece com o resíduo de aminoácido de G164. Através da carbonila da subunidade da sulfonamida ocorre interação de hidrogênio não clássica com o resíduo de aminoácido de K168. O resíduo de aminoácido de A92 realiza interação hidrofóbica do tipo π -alquila com a anilina substituída da tiossemicarbazona. A subunidade da piperidina interagem com o resíduo de R98 através de interação hidrofóbica do tipo alquila, a mesma interação ocorre através da trietilfosfina com os resíduos de aminoácidos de R98 e I125.

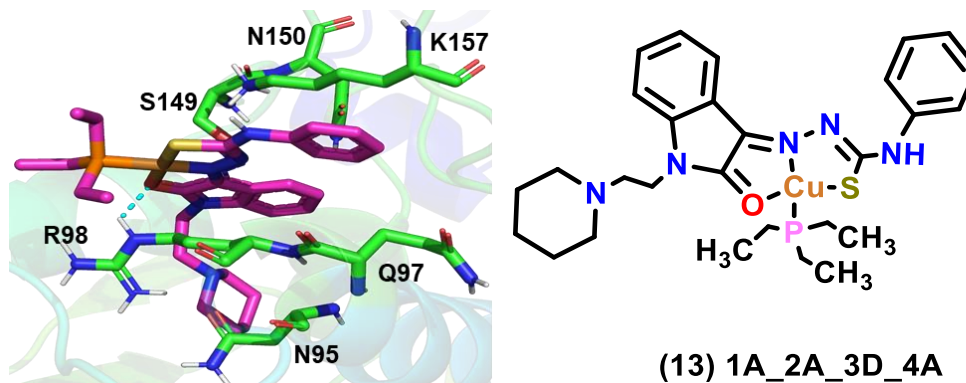


Figura 94. Interação do complexo de cobre II 1A_2A_3D_4A (**13**) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

Na **Figura 94**, observa-se uma interação de hidrogênio não clássica do tipo π -doador decorrente das concentrações de carga do anel aromático da isatina com a função amida presente no resíduo de N150. Adicionalmente, ocorre interação do tipo π -solitário através do anel de 5 membros pertencentes a isatina com a hidroxila do resíduo de aminoácido de S149. Os anéis da base da isatina, ligam-se a cadeia lateral do resíduo

de aminoácido R98, através de interação hidrofóbica do tipo π -alquila. Verifica-se ligação de hidrogênio não clássica a partir da subunidade da piperidina com a carbonila do resíduo de N95, paralelamente, ocorre interação hidrofóbica de tipo alquila através da piperidina com a cadeia lateral do resíduo de I125. Verificou-se interação de hidrogênio não clássica partindo da piperidina até a carbonila do resíduo de N95. O anel aromático da anilina, realiza interação hidrofóbica do tipo π -alquila com a cadeia lateral do resíduo de aminoácido de N157. A mesma subunidade orgânica da anilina faz interação hidrofóbica do tipo amida- π com os resíduos de aminoácidos de Q97-N98. A trietilfosfina realiza interação hidrofóbica do tipo alquila com a cadeia lateral do resíduo de aminoácido de R98.

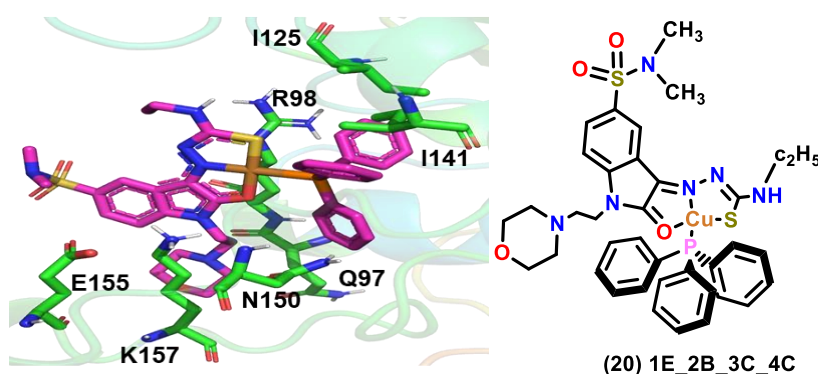


Figura 95. Interação do complexo de cobre II 1E_2B_3C_4C (**20**) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

Pode-se observar a partir da **Figura 95**, que o anel de cinco membros da isatina realiza interação hidrofóbica do π -alquila com a cadeia lateral do resíduo de aminoácido de R98. Adicionalmente, a partir dos anéis da trifetilfosfina ocorre interação hidrofóbica do tipo π -alquila com a cadeia lateral do resíduo de I141 e I125. Os anéis da base da isatina fazem interação eletrostática do tipo π -anión com os resíduos de E155 e K157. A carbonila do resíduo de K157 faz interação hidrofóbica do tipo alquila com a subunidade da morfolina. Verifica-se interação de hidrogênio não clássica através da carbonila do resíduo Q97 com a subunidade da morfolina. A amida do resíduo de aminoácido de N150, realiza interação de hidrogênio não clássica do tipo π -doador com anel aromático da trifetilfosfina. Finalmente, o anel aromático da trifetilfosfina faz interação eletrostática do tipo π -cátion com a amida do resíduo de R98.

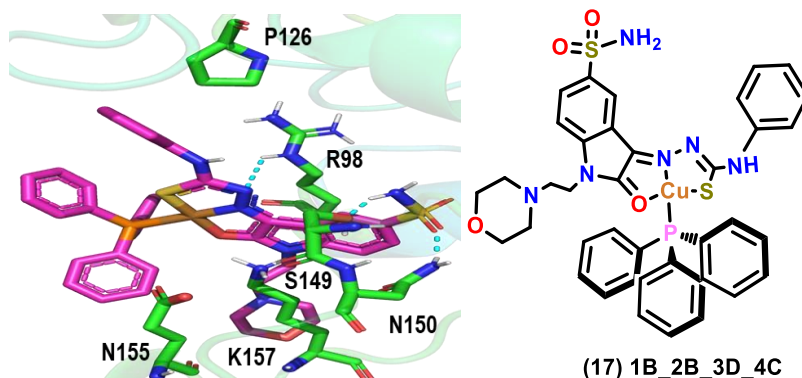


Figura 96. Interação do complexo de cobre II 1B_2B_3D_4C (17) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

Com base na **Figura 96**, é possível observar que a hidroxila do resíduo de aminoácido de S149 faz interação de hidrogênio clássica com a amida da subunidade da sulfonamida, adicionalmente, a carbonila da sulfonamida, realiza interação de hidrogênio clássica com a amida do resíduo de aminoácido de N150. Paralelamente, o resíduo de R98, liga-se ao nitrogênio da base da tiossemicarbazona através de ligação de hidrogênio clássica. Verifica-se interação hidrofóbica do tipo sigma- π a partir do anel aromático pertencente a isatina com o resíduo de R98. Ocorre interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do anel de cinco membros pertencente a isatina com o resíduo de R98. O anel de cinco membros da isatina, faz interação eletrostática do tipo cátion- π com o resíduo de aminoácido de N157. A subunidade da morfolina participa da ligação de hidrogênio não clássica com o resíduo de Q7 e com a carbonila do resíduo de aminoácido de N157. Os anéis aromáticos da trifenilfosfina interagem com a carboxila do resíduo de aminoácido de E155 através de uma interação eletrostática do tipo anión- π . Finalmente, verifica-se interação hidrofóbica do tipo π -alquila através da anilina substituída da tiossemicarbazona com a cadeia lateral do resíduo de aminoácido de P126.

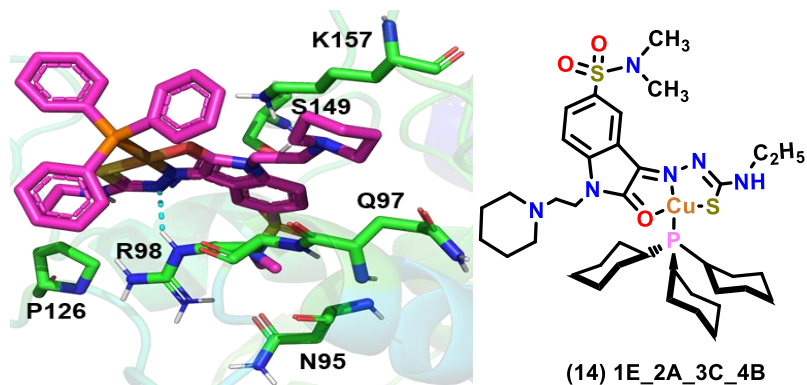


Figura 97. Interação do complexo de cobre II 1E_2A_3C_4B (**14**) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

Os resultados mostrados na **Figura 97**, pode-se observar a interação de hidrogênio não clássica a partir da carbonila da sulfonamida com o resíduo de aminoácido de S149. A metila substituída na sulfonamida, realiza interação de hidrogênio não clássica com a carbonila do resíduo de aminoácido de N95. Adicionalmente, ocorre interação hidrofóbica do tipo alquila através da etila substituída da tiossemiocarbazona com o grupo alquila do resíduo de P126, paralelamente, verificasse a mesma interação a partir da piperidina com o resíduo de aminoácido de N157. Os anéis aromáticos da isatina, interagem com a cadeia lateral do resíduo de R98, através de interação hidrofóbica do tipo π -alquila. O resíduo de aminoácido de N157, liga-se ao anel de cinco membros da isatina através de interação eletrostática do tipo cátion- π . Ocorre interação de hidrogênio não clássica através da subunidade piperidina com a carbonila do resíduo de Q97.

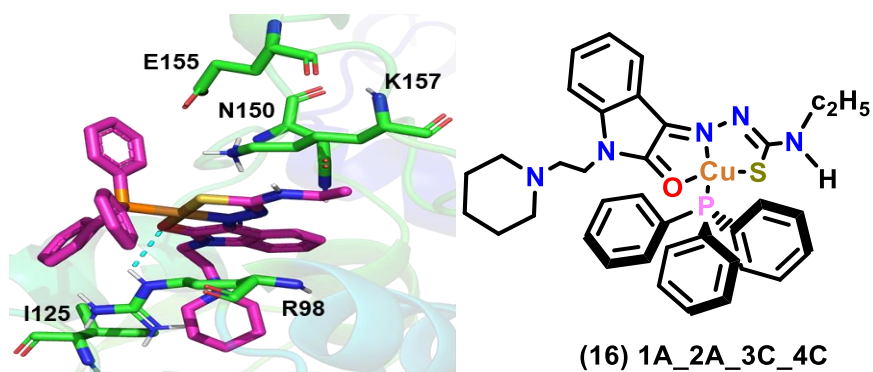


Figura 98. Interação do complexo de cobre II 1A_2A_3C_4C (**16**) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

Na **Figura 98**, observou-se interação de hidrogênio clássica através do oxigênio pertencente a isatina com o grupo amina do resíduo de R98. Ocorre Interação de hidrogênio não clássica do tipo π -doador a partir do anel aromático da isatina com a função amida do resíduo de aminoácido de N150, a mesma interação acontece com a

função amina presente no resíduo de R98. Ocorre interação eletrostática do tipo cátion- π através da trifenilfosfina com o resíduo de aminoácido de R98. Ocorre interação eletrostática do tipo ânion- π através da trifenilfosfina com o grupamento hidroxila pertencente ao resíduo de E155. Ocorre interação hidrofóbica do tipo alquila através do substituinte piperidina com o grupo alquila pertencente ao resíduo I125. Ocorre interação eletrostática do tipo cátion- π através do anel de cinco membros pertencente a isatina com o grupo amina do resíduo de N157. Ocorre interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do anel de aromático da isatina com o grupo alquila do resíduo de R98. Ocorre interação hidrofóbica do tipo alquila através do substituinte etila pertencente a tiossemiocarbazona com o grupo alquila do resíduo de N157.

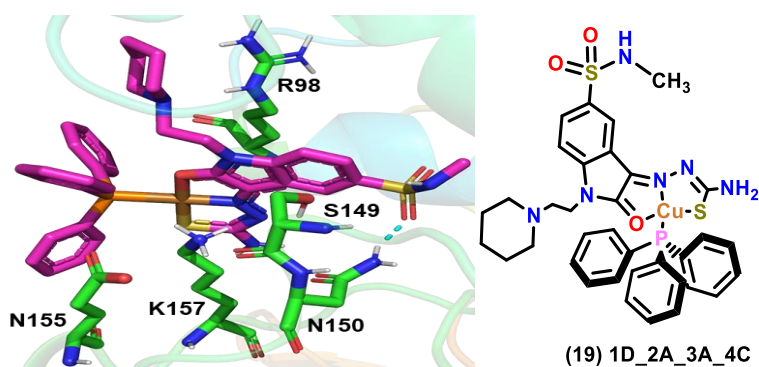


Figura 99. Interação do complexo de cobre II 1D_2A_3A_4C (19) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

Na **Figura 99**, observa-se que sulfona da subunidade sulfonamida realiza interação de hidrogênio clássica com o grupo amida pertencente ao resíduo de N150. Ocorre interação hidrofóbica do tipo σ - π através do anel pertencente à isatina com o resíduo de R98. Ocorre interação hidrofóbica do tipo π -alquila através da isatina com o grupo alquila do resíduo de R98. Ocorre interação do tipo cátion- π através da isatina com a função amina pertencente ao resíduo de N157. Ocorre interação eletrostática do tipo ânion- π através da trifenilfosfina com o grupo carboxílico do resíduo de E155. Ocorre interação de hidrogênio clássica através do nitrogênio pertencente a piperidina com o grupo amina do resíduo de R98. Ocorre interação do tipo π par solitário através do anel aromático indólico pertencente a isatina com a carbonila do resíduo de S149.

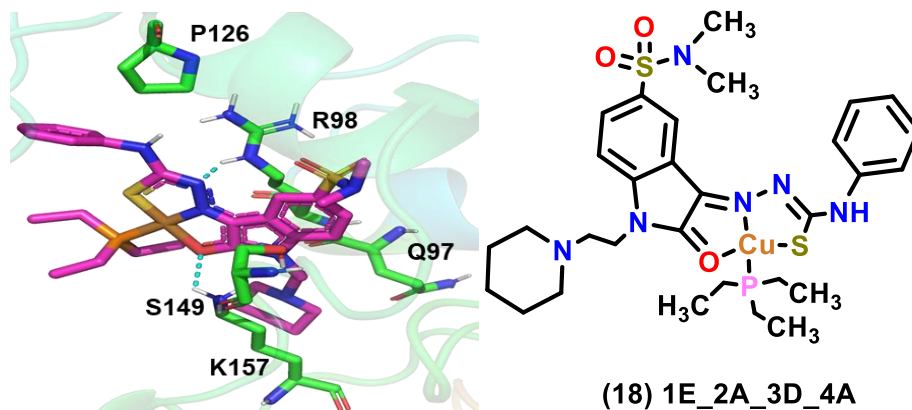


Figura 100. Interação do complexo de cobre II 1E_2A_3D_4A (**18**) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

Com base nos dados da **Figura 100**, pode-se observar a ocorrência de interação de hidrogênio não clássica através do agrupamento da metila substituída da amida da subunidade sulfonamida com a carbonila do resíduo de S149. Ocorre interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do anel aromático pertencente a isatina com o grupo alquila do resíduo de R98, o mesmo ocorre com o anel de cinco membros pertencente a isatina com o resíduo de R98. Ocorre interação hidrofóbica do tipo sigma- π através do anel de cinco membros pertencente a isatina com o resíduo de R98. O nitrogênio pertencente a tiossemicarbazona, realiza interação de hidrogênio clássica com a função amina do resíduo R98. A carbonila pertencente a isatina, realiza interação de hidrogênio clássica com o resíduo de N157. Ocorre interação hidrofóbica do tipo alquila através da piperidina com o grupo alquila do resíduo de N157. Ocorre interação de hidrogênio não clássica através da subunidade da piperidina com a carbonila do resíduo de Q97. Ocorre interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do anel aromático substituído da tiossemicarbazona com o grupo alquila do resíduo de P126.

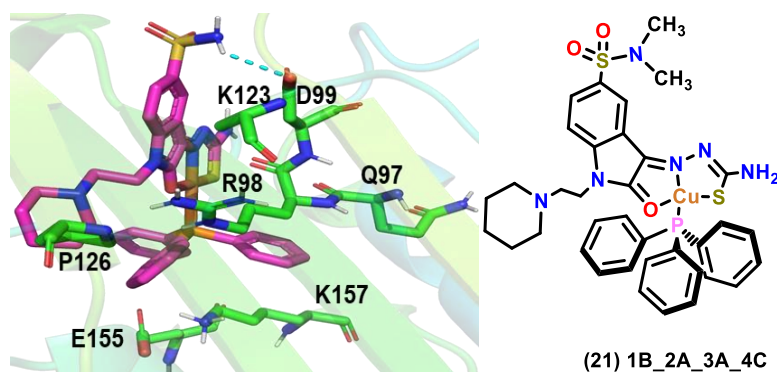


Figura 101. Interação do complexo de cobre II 1B_2A_3A_4C (**21**) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

Na **Figura 101**, mostra interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do anel aromático da isatina com o grupo alquila do resíduo de K123, o mesmo acontece através do anel aromático da trifenilfosfina com a cadeia lateral do resíduo de N157. O anel aromático da trifenilfosfina realiza interação eletrostática do tipo π -cátion com a amina do resíduo de N157. Ocorre interação eletrostática tipo anion- π através do trifenilfosfina com a hidroxila do resíduo do E155. A amida pertencente a subunidade da sulfonamida, realiza interação de hidrogênio clássica com a hidroxila do resíduo do aspartato 99. Ocorre interação eletrostática do tipo π -anion através do anel aromático da isatina com a função hidroxila do resíduo de D99. O anel de cinco membros pertencente a isatina, realiza interação hidrofóbica do tipo π -alquila com o grupo alquila do resíduo de R98. Ocorre interação hidrofóbica tipo empilhamento amida- π através do anel aromático da trifenilfosfina com o resíduo de R98-Q97. Ocorre interação hidrofóbica do tipo alquila através do substituinte piperidina com o grupo alquila do resíduo de P126.

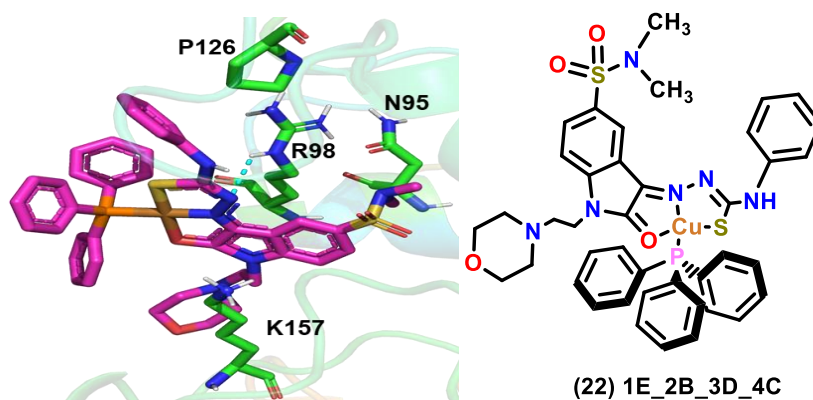


Figura 102. Interação do complexo de cobre II 1E_2B_3D_4C (**22**) com os resíduos de aminoácidos. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

Com base na **Figura 102**, foi possível observar que o grupo alquila presente no substituinte da sulfonamida realiza interação de hidrogênio não clássica com a carbonila do resíduo de N95. Ocorre interação eletrostática do tipo cátion- π através do anel aromático da isatina com o resíduo de N157, o mesmo ocorre para o anel de cinco membros pertencente a isatina com o resíduo de N157. Ocorre interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do anel de cinco membros pertencente à isatina com o grupo alquila do resíduo de R98, a mesma interação verifica-se com o resíduo de N157. Ocorre interação hidrofóbica do tipo sigma- π através do anel aromático pertencente a isatina com o resíduo de R98. Finalmente, verifica-se interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do anel aromático substituído da tiossemicarbazona com o grupo alquila do resíduo de P126.

Com base nos resultados obtidos no sítio ativo do ATP, foi possível observar subunidades estruturais que forneceram maior número de interações com os resíduos de aminoácidos, sendo estas destacadas a seguir na **Figura 103**:

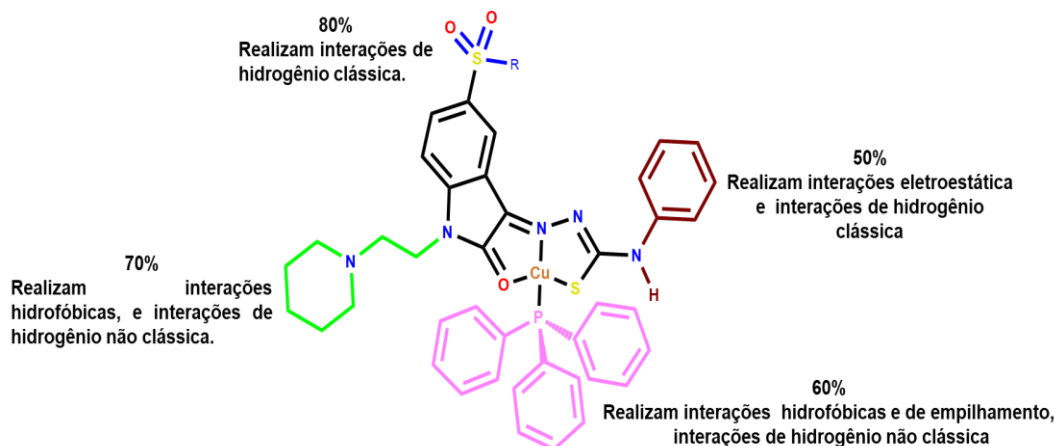


Figura 103. Padrão de substituintes de complexo de cobre II que demonstraram maior número de interações no sítio ativo de ATP.

Os 10 complexos escolhidos por apresentarem maior número de interações com os resíduos do sítio ativo contêm como substituintes: 60% a trifetilfosfina (pink), 50% a amina substituída com anel aromático (marrom), 70% a piperidina (verde) e 80% as sulfonas (azul). Este padrão está relacionado com a presença do grupo doador e aceptor de ligação de hidrogênio, interações hidrofóbicas e eletrostáticas do tipo de empilhamento- π e empilhamento-T que os anéis aromáticos realizam, interações do tipo π -enxofre e interações de hidrogênio não clássicas do tipo $\pi \cdots H-C$ com os orbitais π que acumulam concentrações de carga nos anéis aromáticos e ainda, a presença do substituinte N-heterocíclico possibilitou interação hidrofóbica do tipo π -alquila (FOKOUÉ et al., 2020; OLIVEIRA, 2016).

5.10) Resultados da ancoragem molecular derivados de complexo de paládio II no sítio ativo da topo II alfa co-cristalizada com etoposídeo e DNA.








Realizou-se a análise das interações dos resíduos de aminoácidos através do ranqueamento dos valores de pontuação gerados por meio da ancoragem molecular. Depois do ranqueamento, foram obtidas as poses de complexos (cobre e paládio) gerados pela função pontuação GoldScore. Em seguida, foram escolhidas 10 melhores poses de complexo de cobre e 12 complexos de paládio, que apresentaram maior número de interações com os resíduos do sítio ativo, assim como os que apresentaram maiores valores de pontuação na função de pontuação validada para as topo II alfa. Para

estes, foi realizada a análise criteriosa das interações de complexos de paládio no sítio ativo da enzima, onde os resultados estão representados na **Tabela 12**.

Tabela 12. Interação de 10 complexos de paládio frente aos resíduos de aminoácidos do sítio do etoposídeo (PDB ID: 5gwk F1).

Ligante	ChemPLP	Nº de interações	DG13	DT9	DC8	M766	Y805
5gwk F_1							
Bipy_CH3	116,80	4					
Bipy_CH3_Cl	94,31	3					
Bipy_CH3_H2O	101,67	3					
Bipy_H_Cl	98,13	3					
Fen_CH3	114,06	3					
Fen_H_Cl	112,29	2					
Fen_H_H2O	102,43	2					
Bipy_H_H2O	97,98	2					
Fen_CH3_Cl	105,01	1					
Fen_CH3_H2O	99,08	1					

Ligante	ChemPLP	Nº de interações	G488	DG7	S464	D541	M762	R487	E461	K614	D463	G462	DG10
5gwk F_1													
Bipy_CH3	116,80	4											
Bipy_CH3_Cl	94,31	3											
Bipy_CH3_H2O	101,67	3											
Bipy_H_Cl	98,13	3											
Fen_CH3	114,06	3											
Fen_H_Cl	112,29	2											
Fen_H_H2O	102,43	2											
Bipy_H_H2O	97,98	2											
Fen_CH3_Cl	105,01	1											
Fen_CH3_H2O	99,08	1											

 Ligação de hidrogênio clássica	 Ligação (π-enxofre)	 Hidrofóbica (empilhamento π)
 Ligação de hidrogênio não clássica	 Hidrofóbica (sigma-π)	 Hidrofóbica (π-alquila, alquila-alquila)
 Ligação electrostática (anion-π)		

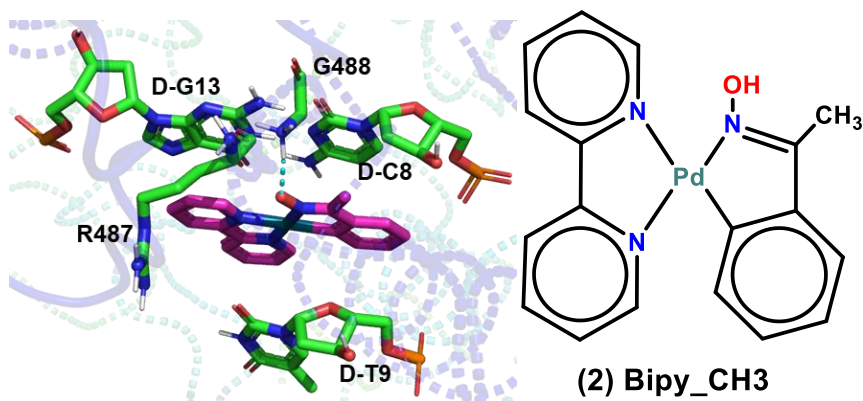


Figura 104. Interação do complexo de paládio Bipy_CH₃ (**2**) com os resíduos de aminoácidos e as bases do DNA. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

Com base na **Figura 104**, o oxigênio presente no ligante 3-metil-2,4-dihidro-1H-isoindol-2-ol, realiza interação de hidrogênio clássica com a função amina do resíduo de G488, adicionalmente, o resíduo de aminoácido de R487, participa de uma interação de hidrogênio não clássica como o oxigênio presente no ligante 3-metil-2,4-dihidro-1H-isoindol-2-ol, paralelamente, através da bipyridina, a mesma interação verifica-se com a carbonila do resíduo de R487. A base pirimídica da citosina 8, faz interação hidrofóbica do tipo empilhamento- π com o anel de aromático pertencente a 3-metil-2,4-dihidro-1H-isoindol-2-ol, a mesma interação, ocorre com a base purínica da guanina 13 e base pirimídica da timina 9 com anéis aromáticos do ligante bipyridina.

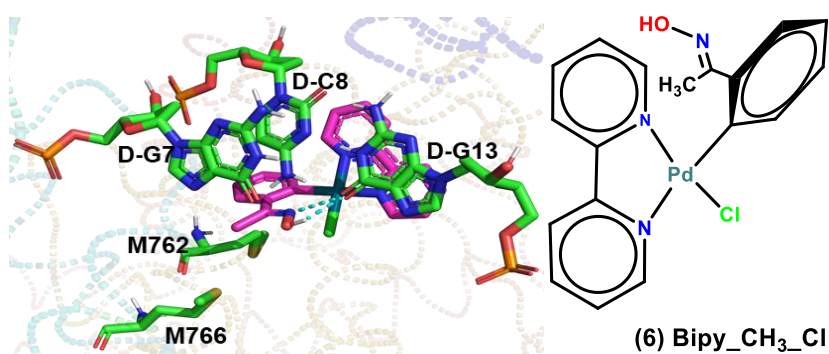


Figura 105. Interação do complexo de paládio Bipy_CH₃_Cl (**6**) com os resíduos de aminoácidos e as bases do DNA. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

O resultado representado na **Figura 106**, mostra que ocorre interação de hidrogênio clássica a partir da base purínica da guanina 13 com a hidroxila de benzaldoxima. Verifica-se a ocorrência de interação hidrofóbica do tipo empilhamento T através da bipyridina com a base purínica da guanina 13, adicionalmente, a mesma

interação acontece ocorre com a base pirimídica da citosina 8. A metila substituída do ligante benzaldoxima, realiza interação hidrofóbica do tipo π -alquila com a cadeia lateral da base purínica da guanina 7. O resíduo de aminoácido de M766, interagem com a metila substituída da benzaldoxima através de interação hidrofóbica do tipo alquila. Finalmente, o anel aromático da benzaldoxima faz interação hidrofóbica do tipo π -alquila com a cadeia lateral do resíduo de M762.

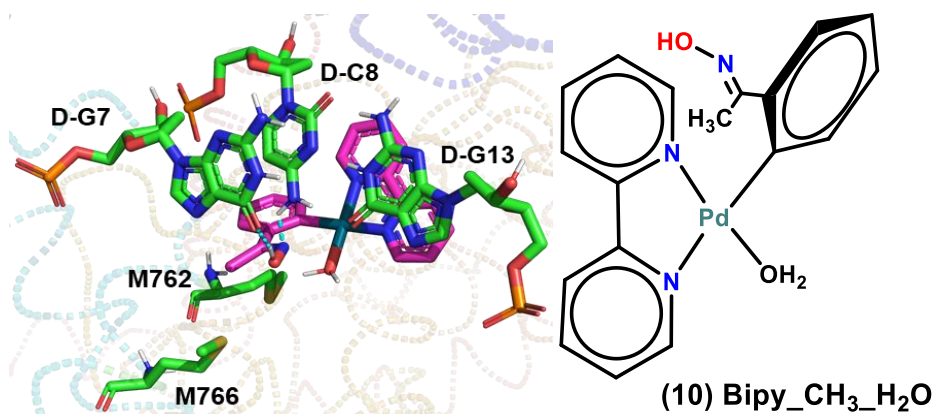


Figura 106. Interação do complexo de paládio Bipy_CH₃_H₂O (**10**) com os resíduos de aminoácidos e as bases do DNA. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

Os dados da **Figura 106**, mostram que acontece interação hidrofóbica do tipo alquila através da metila substituída da benzaldoxima com a cadeia lateral do resíduo de aminoácido de M766, em contrapartida, o anel aromático da benzaldoxima, faz interação hidrofóbica do tipo π -alquila com a cadeia lateral do resíduo de aminoácido de M762. Adicionalmente, a metila substituída do ligante benzaldoxima, realiza interação hidrofóbica do tipo π -alquila com a base purínica da guanina 7. Por outra, verifica-se interação de hidrogênio clássica a partir da carbonila pertencente a base purínica da guanina 7 com a hidroxila substituída da benzaldoxima, paralelamente, a mesma interação ocorre com a amina da base pirimídica da citosina 8. Ocorre interação hidrofóbica do tipo empilhamento T através da bipyridina com a base purínica da guanina 13, O mesmo ocorre com a base pirimídica da citosina 8.

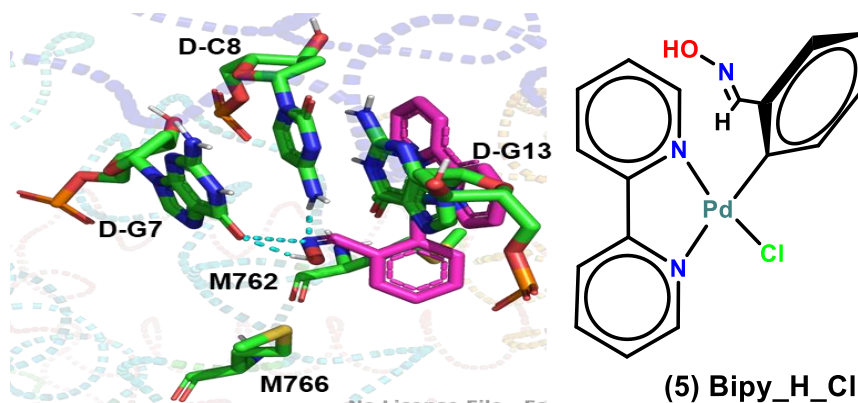


Figura 107. Interação do complexo de paládio Bipy_H_Cl (**5**) com os resíduos de aminoácidos e as bases do DNA. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

Com base nos resultados apresentados na **Figura 107**, foi possível observar que a carbonila pertencente a base purínica da guanina 13, realiza interação de hidrogênio clássica com a hidroxila da benzaldoxima. Outrora, o nitrogênio pertencente ao ligante benzaldoxima realiza interação de hidrogênio clássica com a amina da base pirimídica da citosina 8. Adicionalmente, verificou-se interação hidrofóbica do tipo empilhamento T através da bipyridina com a base purínica da guanina 13. A cadeia lateral do resíduo de aminoácido de M762 participa de uma interação hidrofóbica do tipo π -alquila com o anel aromático da benzaldoxima. Finalmente, deu-se interação do tipo π -enxofre entre o resíduo de aminoácido de M766 com o anel aromático da benzaldoxima.

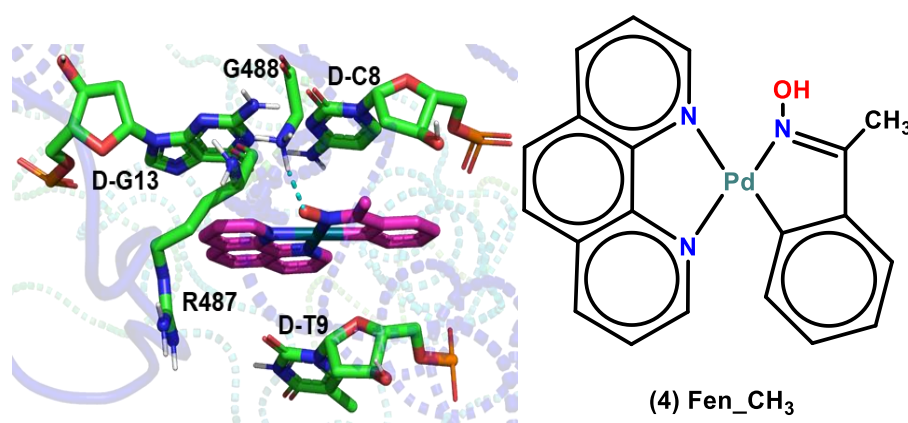


Figura 108. Interação do complexo de paládio Fen_CH₃ (**4**) com os resíduos de aminoácidos e as bases do DNA. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

Os resultados apontados na **Figura 108**, mostra a ocorrência de interação hidrofóbica do tipo empilhamento- π a partir do ligante 3-metil-2,4-dihidro-1H-isindol-2-ol com a base pirimídica da citosina 8. Paralelamente, verificou-se interação hidrofóbica

do tipo empilhamento T através do ligante da fenantrolina com a base pirimídica da timina 9 e com a base purínica da guanina 13. Finalmente, ocorre interação de hidrogênio clássica através da hidroxila presente no ligante com função amina do resíduo de G488.

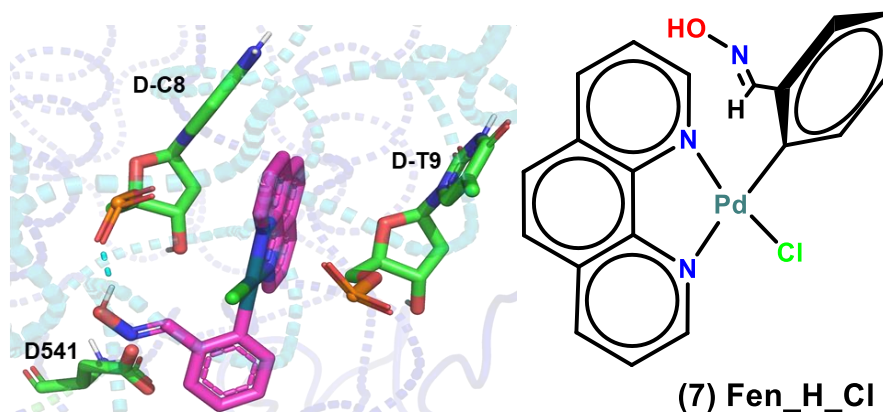


Figura 109. Interações entre o complexo Fen_H_Cl (7) com os resíduos de aminoácidos e as bases do DNA. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

Com base na **Figura 109**, observou-se interação eletrostática do tipo anión- π através do anel aromático da benzaldoxima com a carboxila do resíduo de D541. Adicionalmente, verificou-se interação hidrofóbica do tipo empilhamento T através da fenantrolina com a base pirimídica da citosina 8. A hidroxila substituída da benzaldoxima realiza interação de hidrogênio clássica com o grupo fosfina da base pirimídica da citosina 8, a mesma base através do grupo fosfina, realiza interação eletrostática do tipo anión- π com a fenantrolina. Houve interação de hidrogênio não clássico através da subunidade da fenantrolina com a fosfina da base pirimídica da timina 9. Finalmente, o anel aromático da fenantrolina faz interação hidrofóbica do tipo sigma- π com a subunidade da base pirimídica da timina 9.

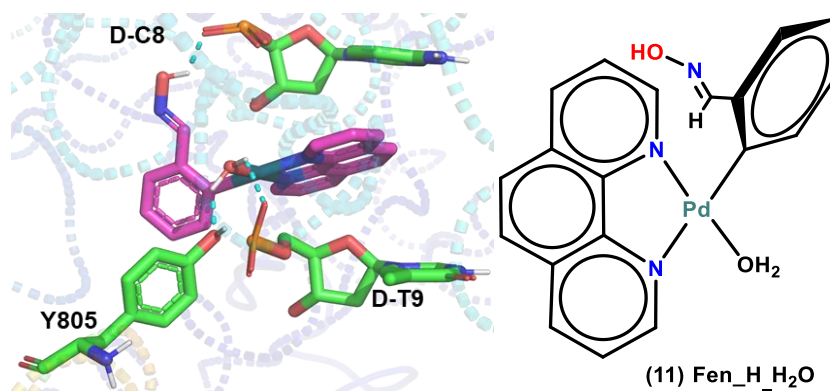


Figura 110. Interações entre o complexo Fen_H_H₂O (11) com os resíduos de aminoácidos e as bases do DNA. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

Ocorre interação eletrostática do tipo anión- π através do da fenantrolina com a fosfina da base pirimídica da citosina 8, como observado na **Figura 110**. Houve interação hidrofóbica do tipo empilhamento T através da fenantrolina com a base pirimídica da citosina 8. A hidroxila presente no ligante benzaldoxima realiza interação de hidrogênio clássica com a base pirimídica da citosina 8. A molécula de água presente no complexo realiza interação de hidrogênio clássica com a subunidade fosfina da base pirimídica da timina 9. O mesmo verifica-se com o resíduo de aminoácido de Y085. Observou-se interação de hidrogênio não clássica através da subunidade da fenantrolina com a fosfina da base pirimídica da timina 9.

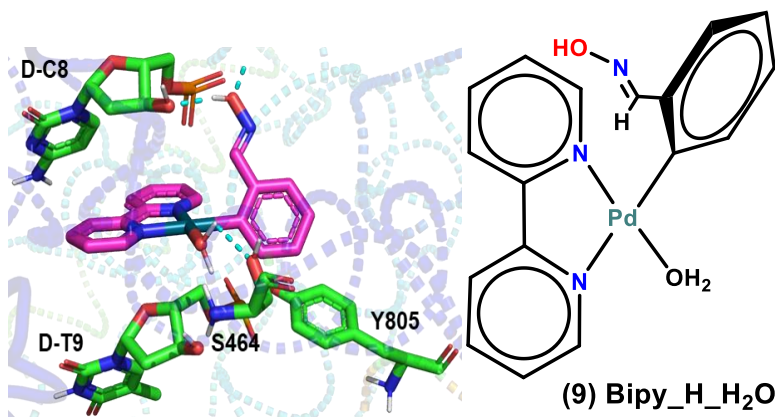


Figura 111. Interações entre o complexo Bipy_H_H₂O (**9**) com os resíduos de aminoácidos e as bases do DNA. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

O resíduo de aminoácido de S464 ilustrado na **Figura 111**, realiza interação de hidrogênio clássica com a molécula da água pertencente ao complexo. Verificou-se interação hidrofóbica do tipo empilhamento T através da benzaldoxima com o resíduo de aminoácido de Y085. Ocorre interação de hidrogênio não clássica através da benzaldoxima com a hidroxila da base pirimídica da citosina 8. Observou-se interação eletrostática do tipo anión- π através do anel da bipyridina com a função fosfina da base pirimidica da timina 9. A base pirimídica da citosina 8 interagem com a hidroxila do complexo através de ligação de hidrogênio clássica.

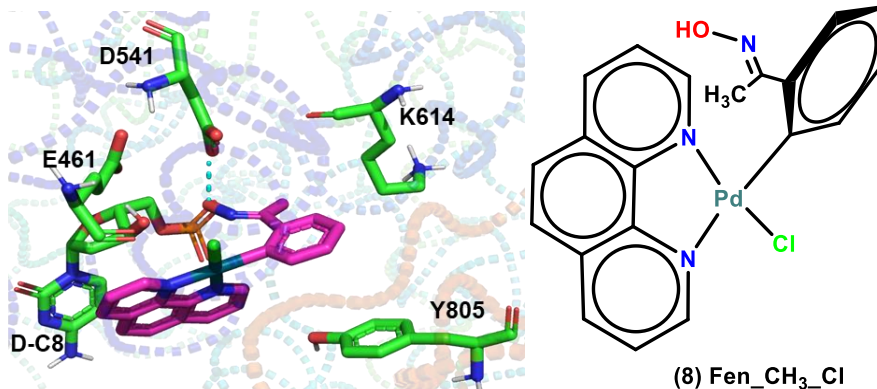


Figura 112. Interações entre o complexo Fen_CH₃_Cl (**8**) com os resíduos de aminoácidos e as bases do DNA. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

Com base na **Figura 112**, observa-se que a hidroxila presente no ligante benzaldoxima realiza interação de hidrogênio clássica com a fosfina da base pirimídica da citosina 8. Enquanto a fenantrolina realiza interação de hidrogênio não clássica com a carbonila do resíduo de E461. Verifica-se interação hidrofóbica do tipo empilhamento T através da fenantrolina com a base pirimídica da citosina 8. A função carboxílica do resíduo de aminoácido de D541, faz interação eletrostática do tipo anión- π com o anel da benzaldoxima. O resíduo de Y085, realiza interação hidrofóbica do tipo empenhamento T com o anel aromático do ligante benzaldoxima. Finalmente, o resíduo de aminoácido de K614 faz interação hidrofóbica do tipo alquila com a metila substituída da benzaldoxima.

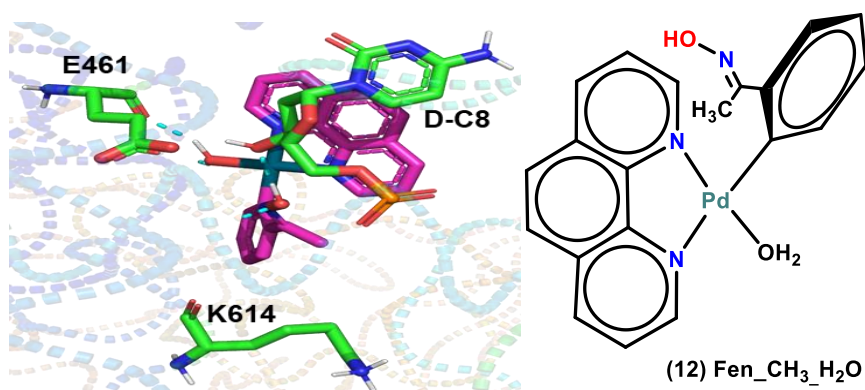


Figura 113. Interações entre o complexo Fen_CH₃_H₂O (**12**) com os resíduos de aminoácidos e as bases do DNA. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

Na **Figura 113**, pode verificar a interação hidrofóbica do tipo alquila através da metila substituída da benzaldoxima com a cadeia lateral da K614. Enquanto, o resíduo de E461 realiza interação de hidrogênio não clássica com a subunidade da fenantrolina. A molécula de água faz interação de hidrogênio clássica com a carbonila do resíduo do

E461. A hidroxila presente no ligante benzaldoxima realiza interação de hidrogênio clássica com o átomo de oxigênio presente na base pirimídica da citosina 8. Verifica-se interação hidrofóbica do tipo empilhamento- π através da fenantrolina com a base pirimídica da citosina 8.

Com base nos resultados obtidos no sítio do etoposídeo frente aos complexos de paládio II, foi possível observar subunidades estruturais que forneceram maior número de interações com os resíduos de aminoácidos com as bases do DNA, sendo estas destacadas a seguir na **Figura 114**:

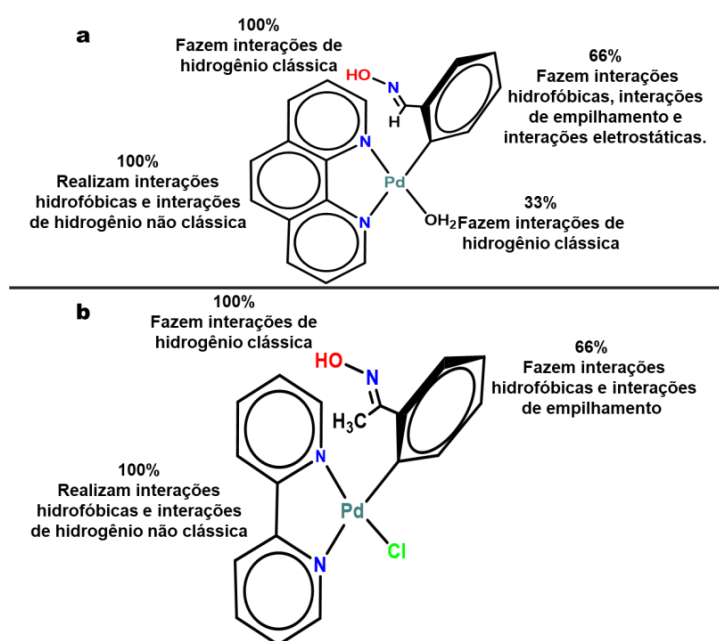


Figura 114. Padrão de substituintes de complexo de paládio II que demonstraram maior número de interações no sítio ativo de etoposídeo.

Os complexos de paládio (II) contendo substituintes fenantrolina **(a)** e bipyridina **(b)**, no sítio ativo do etoposídeo, os anéis aromáticos de ambos os complexos, apresentarem maior número de interações com os resíduos do sítio ativo, a subunidade da fenantrolina e da bipyridina **(a)** e **(b)**, realizaram 100% interações hidrofóbicas, paralelamente a hidroxila substituída representado em (vermelho) em ambos complexos, realiza 100% interações de hidrogênio clássica, enquanto o anel aromático da benzaldoxima em ambos complexo **(a)** e **(b)** realiza 66% de interações hidrofóbica e de empilhamento, o substituinte de H₂O do complexo **(a)** realiza 100% interação de hidrogênio clássica. Tal padrão está relacionado com a presença do grupo doador e receptor de ligação de hidrogênio, interações hidrofóbicas interações do tipo π -enxofre e interações de hidrogênio não clássica do tipo $\pi \cdots \text{H-C}$ com os orbitais π que acumulam concentrações de carga nos anéis aromáticos(FOKOUE et al., 2020; OLIVEIRA, 2016).








5.11) Resultados da ancoragem molecular do sítio ativo da topo II alfa co-cristalizada com etoposídeo e DNA, derivados de complexo de cobre.

Realizou-se a análise das interações dos resíduos de aminoácidos e das bases nitrogenadas através do ranqueamento dos valores de pontuação gerados por meio da ancoragem molecular. Depois do ranqueamento, foram obtidas as poses de complexos (cobre II) gerados pela função pontuação ChemPLP. Em seguida, foram extraídas e analisadas 10 poses de complexo de cobre que apresentaram maior número de interações com os resíduos do sítio ativo, assim como as que apresentaram maiores valores de pontuação na função de pontuação validada para o sítio ativos do etoposídeo. Para estes complexos, foi realizada a análise criteriosa das interações de complexos (cobre II) no sítio ativo da enzima, onde os resultados estão representados na **Tabela 13**.

Tabela 13. Interação dos 10 complexos de cobre frente aos resíduos de aminoácidos do sítio do etoposídeo (PDB ID: 5gwk F1).

Ligante	ChemPLP	Nº de interações	D463	G462	DG13	DT9	DC8	DG10	DA12	D541
5gwk F_1										
1E_2C_3D_4C	118,91	6								
1D_2C_3D_4C	115,96	6								
1B_2B_3D_4A	112,63	5								
1D_2A_3D_4C	119,97	5								
1C_2A_3D_4C	118,06	5								
1B_2B_3D_C4	117,96	4								
1A_2A_3D_4C	117,16	4								
1D_2B_3D_4C	114,01	6								
1A_2B_3D_4C	115,82	4								
1B_2A_3D_4A	115,78	4								

Ligante	ChemPLP	Nº de interações	M766	M762	R487	G488	DG7	S763	D506	Y805
5gwk F_1										
1E_2C_3D_4C	118,91	6								
1D_2C_3D_4C	115,96	6								
1B_2B_3D_4A	112,63	5								
1D_2A_3D_4C	119,97	5								
1C_2A_3D_4C	118,06	5								
1B_2B_3D_C4	117,96	4								
1A_2A_3D_4C	117,16	4								
1D_2B_3D_4C	114,01	6								
1A_2B_3D_4C	115,82	4								
1B_2A_3D_4A	115,78	4								

	Ligação de hidrogênio clássica		Ligação (π -enxofre)		Hidrofóbica (empilhamento π)
	Ligação de hidrogênio não clássica		Hidrofóbica (Sigma- π)		Hidrofóbica (π -alquila, alquila-alquila)
	Ligação electrostática (anion- π)				

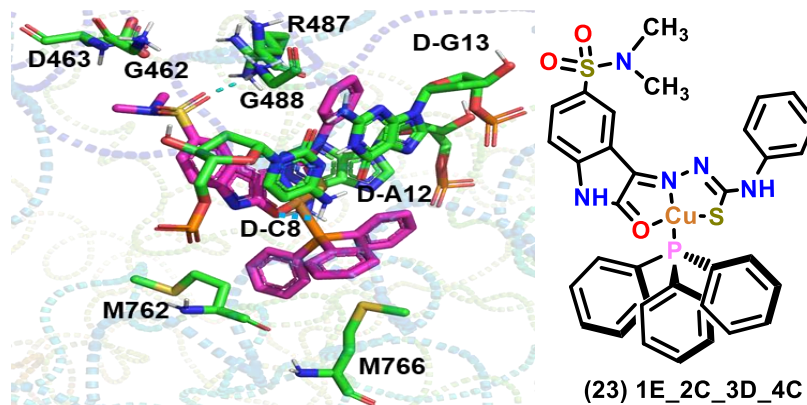


Figura 115. Interações entre o complexo 1E_2C_3D_4C (**23**) com os resíduos de aminoácidos e as bases do DNA. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

Com base na **Figura 115**, pode-se observar que a carbonila pertencente a sulfona, faz interação de hidrogênio clássica com a amina do resíduo de G488. Paralelamente, verificou-se interação de hidrogênio não clássica a partir da carbonila pertencente a sulfona com o resíduo de aminoácido de G462, da mesma forma acontece com o resíduo de R487, por outro lado, através da hidroxila do resíduo de aminoácido de D463, verifica-se interação de hidrogênio não clássica com a metila substituída da sulfonamida. A base pirimídica da citosina 8, realiza interação hidrofóbica do tipo empilhamento- π através dos anéis aromáticos derivado da isatina. Ocorre interação de hidrogênio clássica através do oxigênio da isatina com a base pirimídica da citosina 8. Verifica-se interação hidrofóbica do tipo π -alquila através da trifenilfosfina com o grupo alquila do resíduo de aminoácido de M762. Ocorre interação eletrostática do tipo π -enxofre através da trifenilfosfina com o resíduo de aminoácido de M766. Observa-se interação de hidrogênio não clássica através da trifenilfosfina com os orbitais π que acumulam concentrações de carga no anel aromático da base pirimídica da citosina 8. Ocorre interação de hidrogênio não clássica oriunda da função amina substituída na tiossemicarbazona com os orbitais π que acumulam concentrações de carga no anel aromático da base purínica da adenina 12. Adicionalmente, a base purínica da guanina 13 faz interação hidrofóbica do tipo empilhamento- π com o anel aromático substituído da tiossemicarbazona. A cadeia lateral do resíduo de aminoácido de R487, liga-se ao anel aromático da tiossemicarbazona através de interação hidrofóbica do tipo π -alquila. Finalmente, verificou-se interação de hidrogênio não clássico tipo π doador através do anel aromático substituído da tiossemicarbazona com o resíduo de R487.

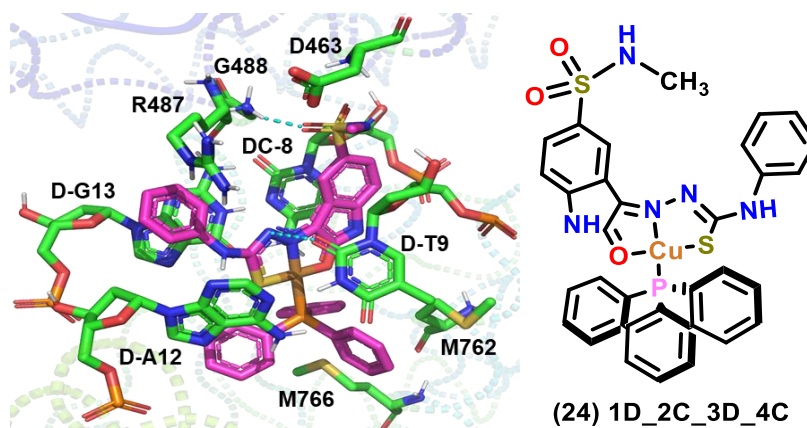


Figura 116. Interações entre o complexo 1D_2C_3D_4C (24) com os resíduos de aminoácidos e as bases do DNA. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

Os resultados ilustrados na **Figura 116**, mostra que a carbonila da sulfonamida, faz interação de hidrogênio clássica com o resíduo de aminoácido de G488. A metila substituída da sulfonamida, realiza interação de hidrogênio não clássica com o grupo hidroxila do D463, da mesma forma ocorre com a função amida da sulfonamida substituída, com a base pirimídica da timina 9. O anel aromático da isatina interagem com a base pirimídica da citocina 8 por interação hidrofóbica do tipo empilhamento T. Verifica-se interação de hidrogênio não clássica do tipo π -doador através do anel aromático da trifenilfosfina com a base pirimídica da citosina 8. O resíduo de aminoácido de M766, realiza interação tipo π -enxofre com a trifenilfosfina. Adicionalmente, a trifenilfosfina, faz interação hidrofóbica do tipo π -alquila com a cadeia lateral do resíduo de aminoácido de M762. Ocorre interação hidrofóbica do tipo empilhamento- π através da trifenilfosfina com a base purínica da adenina 12. Paralelamente, a amina substituída da tiossemicarbazona faz interação de hidrogênio não clássica com a base purínica da adenina 12 e com resíduo de aminoácido de R487. Por outro lado, verificou-se interação hidrofóbica do tipo empilhamento- π , a partir da anilina substituída da tiossemicarbazona com a base purínica guanina 13. Finalmente, verifica-se interação hidrofóbica do tipo π -alquila através da anilina pertencente da tiossemicarbazona com o grupo alquila do resíduo de R487.

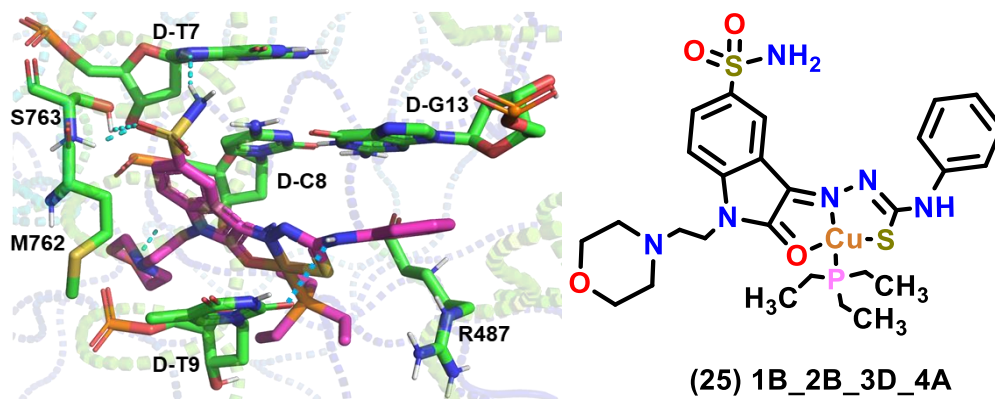


Figura 117. Interações entre o complexo 1B_2B_3D_4A (25) com os resíduos de aminoácidos e as bases do DNA. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

Na **Figura 117**, podemos observar que, amina substituída da tiossemicarbazona, faz interação de hidrogênio clássica com a carbonila da base pirimídica da timina 9. A anilina substituída na amina da tiossemicarbazona, realiza interação hidrofóbica do tipo empilhamento- π com a base purínica da guanina 13. Adicionalmente, o resíduo de aminoácido de R487, faz interação hidrofóbica do tipo π -alquila e cátion- π com a anilina da tiossemicarbazona. Paralelamente, a cadeia lateral do resíduo de aminoácido de R487, o corre interação hidrofóbica do tipo alquila com a trietilfosfina. A carbonila da sulfonamida, faz interação de hidrogênio clássica com a hidroxila do resíduo de S763. Verificou-se interação de hidrogênio não clássica através da carbonila pertencente a sulfonamida com o resíduo de M762. A amida substituída da sulfonamida, realiza interação de hidrogênio clássica com a base purínicas da guanina 7, o mesmo ocorre com a base pirimídica da citosina 8. O oxigênio da isatina realiza interação de hidrogênio não clássica com a base pirimídica da timina 9. A morfolina substituída do ligante, realiza interação de hidrogênio não clássica com a base pirimídica da citosina 8, a mesma interação corre com a carboxila do resíduo de aminoácido de D541.

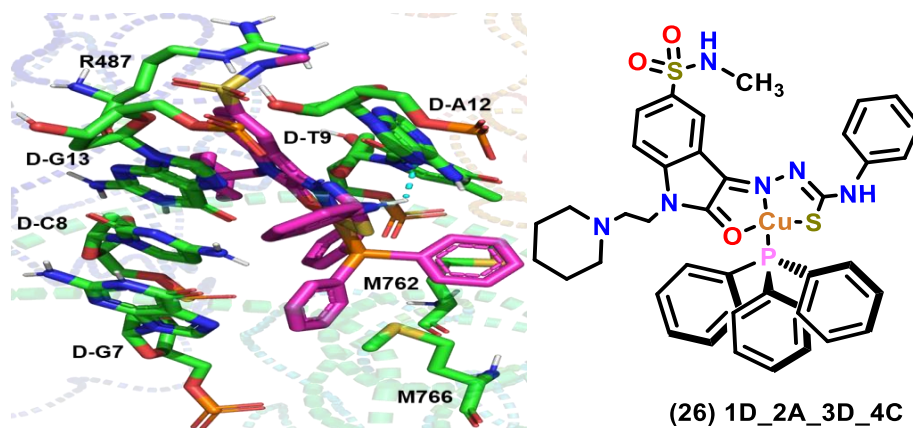


Figura 118. Interações entre o complexo 1D_2A_3D_4C (26) com os resíduos de aminoácidos e as bases do DNA. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

Com base nos resultados da **Figura 118**, observou-se que a carbonila da sulfonamida realiza interação de hidrogênio não clássica com a base purínica da adenina 12. O resíduo de aminoácido R487 faz interação de hidrogênio não clássica com a carbonila da sulfonamida, a mesma interação verifica-se com a metila substituída da amida da sulfonamida com a base purina da adenina 12. Ocorre interação hidrofóbica do tipo empilhamento- π através do anel aromático da isatina com a base purínica da adenina 12 e com a base purínica da guanina 13. O resíduo de aminoácido de R487, faz interação hidrofóbica do tipo π -alquila e cátion- π com o anel aromático da isatina. A amina pertencente tiossemicarbazona realiza interação de hidrogênio não clássica com a base purínica da adenina 12. Ocorre interação eletrostática do tipo anión- π através do anel aromático substituído da amina da tiossemicarbazona com a base purínica da guanina 13. O anel aromático da trifetilfosfina realiza interação do tipo π -enxofre com o resíduo de M766. O anel aromático da trifetilfosfina faz interação hidrofóbica do tipo empilhamento-T com a base purínica da guanina 7. O anel aromático da trifetilfosfina realiza interação de hidrogênio não clássica com a função amina da base pirimídica da citosina 8. Ocorre interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do anel aromático presente na trifetilfosfina com o grupo alquila do resíduo de M762. A base pirimídica da timina 9 interagem com a piperidina através de interação de hidrogênio não clássica. Finalmente, verifica-se interação hidrofóbica do tipo sigma- π através do anel aromático da trifelfosfina com o resíduo de aminoácido de M762.

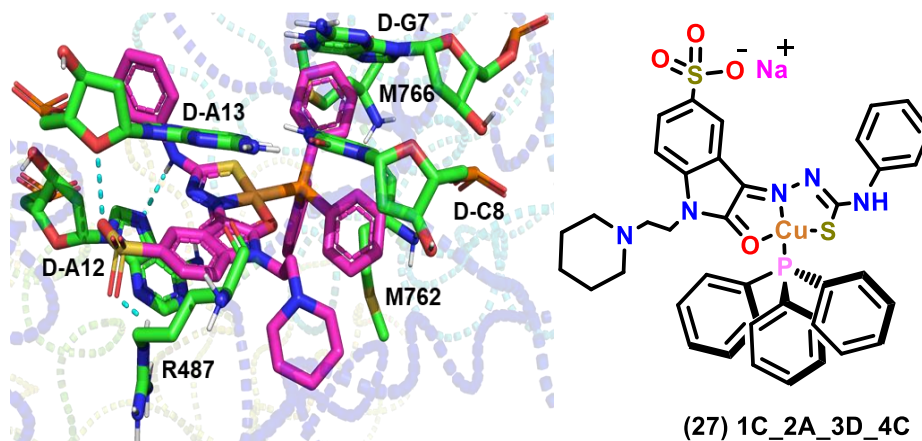


Figura 119. Interações entre o complexo 1C_2A_3D_4C (27) com os resíduos de aminoácidos e as bases do DNA. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

Com base no resultado apresentado na **Figura 119**, foi possível analisar que ocorre interação de hidrogênio clássica através da carbonila na sulfonamida com o resíduo de R487. Adicionalmente, verifica-se interação de hidrogênio não clássica através da carbonila da sulfonamida com o resíduo de R487, a mesma interação observa-se com a base purínica da adenina 12. A amina substituída da tiossemicarbazona realiza interação de hidrogênio clássica com a base purínica da adenina 12. A anilina substituída da tiossemicarbazona faz interação eletroestática do tipo ânion- π com a base purínica guanina 13. As bases purínicas da adenina 12 e guanina 13 fazem interação do tipo empilhamento- π com o anel aromático da isatina. A cadeia lateral do resíduo de R487 realiza interação hidrofóbica do tipo π -alquila com o anel aromático da isatina. A trifenilfosfina realiza interação hidrofóbica do tipo π -alquila com a cadeia lateral do resíduo de aminoácido de M762. Ocorre interação de hidrogênio não clássica através da subunidade piperidina com a carbonila da base pirimídica da timina 7, o mesmo verifica-se a partir da trifenilfosfina com a base pirimídica da citosina 8. O anel aromático da trifenilfosfina faz interação do tipo empilhamento-T com a base purínica da guanina 7. O anel aromático da trifenilfosfina realiza interação do tipo π -enxofre com o resíduo de M766. Finalmente, verifica-se interação hidrofóbica do tipo π -sigma através do anel aromático da trifelifosfina com o resíduo de aminoácido M762.

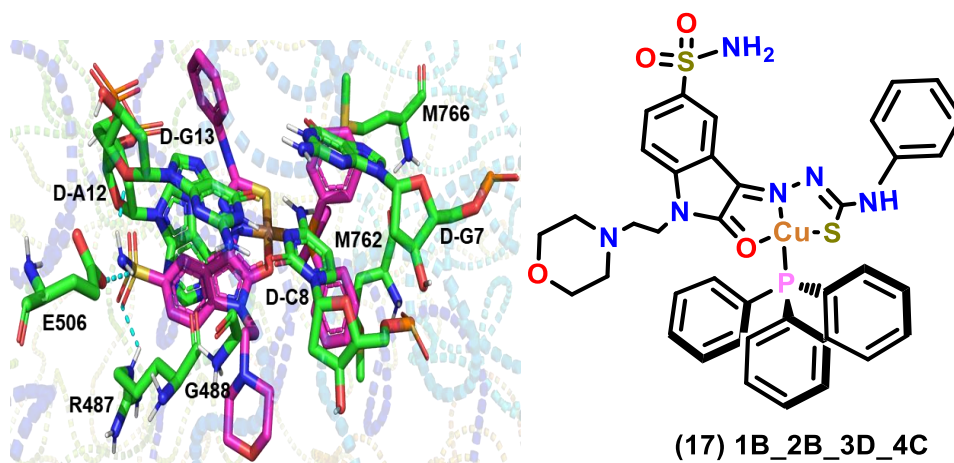


Figura 120. Interações entre o complexo 1B_2B_3D_4C (17) com os resíduos de aminoácidos e as bases do DNA. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

A **Figura 120**, mostra interação de hidrogênio clássica entre a carbonila sulfonamida com o resíduo de R487. A amida da subunidade sulfonamida, realiza interação de hidrogênio clássica com a carbonila da pentose da base purínica guanina 13, o mesmo ocorre com a hidroxila do resíduo do E506. Ocorre interação de hidrogênio não clássica através da carbonila da sulfonamida com a base purínica da adenina 12. As bases purínicas da adenina 12 e guanina 13 fazem interação do tipo empilhamento- π com o anel aromático da isatina. A cadeia lateral do resíduo de R487 realiza interação hidrofóbica do tipo π -alquila com o anel aromático da isatina. A anilina substituída da tiossemicarbazona faz interação eletroestática do tipo ânion- π com a base purínica guanina 13. A amina substituída da tiossemicarbazona realiza interação de hidrogênio clássica com a base purínica da adenina 12. Ocorre interação de hidrogênio não clássica através da subunidade da morfolina substituída com a carbonila do resíduo de R487. A subunidade da morfolina faz interação de hidrogênio clássica com a função amina do resíduo de G488. O anel aromático da trifenilfosfina faz interação do tipo empilhamento T com a base purínica da guanina 7. O anel aromático da trifenilfosfina realiza interação do tipo π -enxofre com o resíduo de M766. Ocorre interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do anel aromático presente na trifenilfosfina com o grupo alquila do resíduo de M762. Finalmente, observa-se interação de hidrogênio não clássica através da trifenilfosfina com a função amina da base pirimídica da citosina 8.

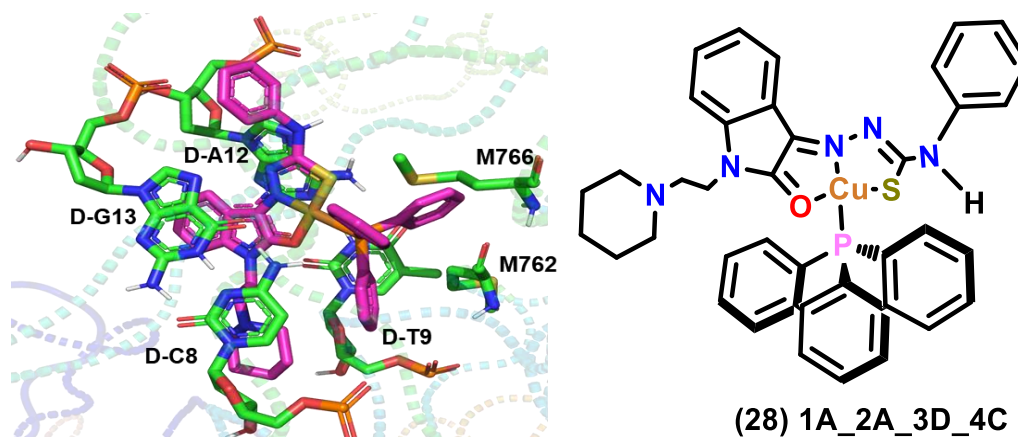


Figura 121. Interações entre o complexo 1A_2A_3D_4C (28) com os resíduos de aminoácidos e as bases do DNA.

Os resultados apresentados na **Figura 121**, mostra a ocorrência de uma interação de hidrogênio não clássica através da função amina da base pirimídica da citosina 8 para os orbitais π que acumulam concentrações de carga no anel aromático da trifenilfosfina. O anel aromático da trifenilfosfina realiza interação do tipo π -enxofre com o resíduo de M766. Ocorre interação do tipo empilhamento- π através do anel aromático derivado da isatina com a base purínica da adenina 12 e guanina 13. O anel aromático da trifenilfosfina faz interação do tipo empilhamento T com a base pirimídica da timina 9. Ocorre interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do anel aromático presente na trifenilfosfina com a cadeia lateral do resíduo de M762. Ocorre interação eletroestática do tipo ânion- π através da amina substituída na tiossemicarbazona com o anel aromático do grupo fosfato pertencente a base purínica guanina 13. Observou-se interação de hidrogênio não clássica através da subunidade piperidina com a pentose da base pirimídica da timina 9.

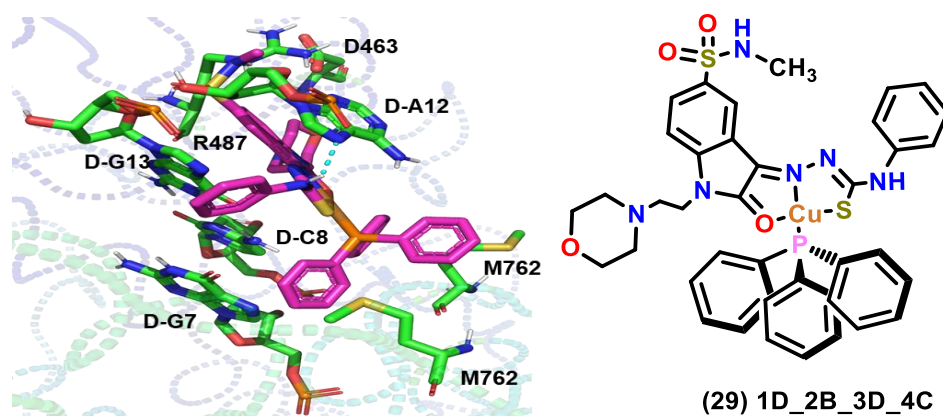


Figura 122. Interações entre o complexo 1D_2B_3D_4C (29) com os resíduos de aminoácidos e as bases do DNA. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

Com base na **Figura 122**, foi possível observar interação de hidrogênio não clássica através da carbonila pertencente a sulfonamida com a base purínica da adenina 12 e guanina 13. Ocorre interação do tipo empilhamento- π através do anel aromático derivado da isatina com a base purínica da adenina 12 e guanina 13. A cadeia lateral do resíduo de R487 realiza interação hidrofóbica do tipo π -alquila com o anel aromático da isatina. O resíduo de aminoácido de R487, faz interação eletrostática do tipo cátion- π com o anel aromático da isatina. A anilina substituída da tiossemicarbazona faz interação eletrostática do tipo ânion- π com a base purínica guanina 13. Ocorre interação de hidrogênio clássica entre o átomo de nitrogênio da base purínica da adenina 12 com a função amina pertencente a tiossemicarbazona. A carbonila da base pirimídica timina, realiza interação de hidrogênio não clássica com a morfolina substituída. A subunidade da morfolina realiza interação de hidrogênio não clássica com a hidroxila do resíduo do D463. Ocorre interação hidrofóbica do tipo π -sigma através do anel aromático da trifenilfosfina com o resíduo de M762. O anel aromático da trifenilfosfina realiza interação do tipo π -enxofre com o resíduo de M766. O anel aromático da trifenilfosfina realiza interação do tipo empilhamento-T com a base purínica da guanina 7. Ocorre interação de hidrogênio não clássica através do anel da trifenilfosfina com a função amina da base pirimídica da citosina 8. Finalmente, observa-se interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do anel aromático presente na trifenilfosfina com a cadeia lateral resíduo de M762.

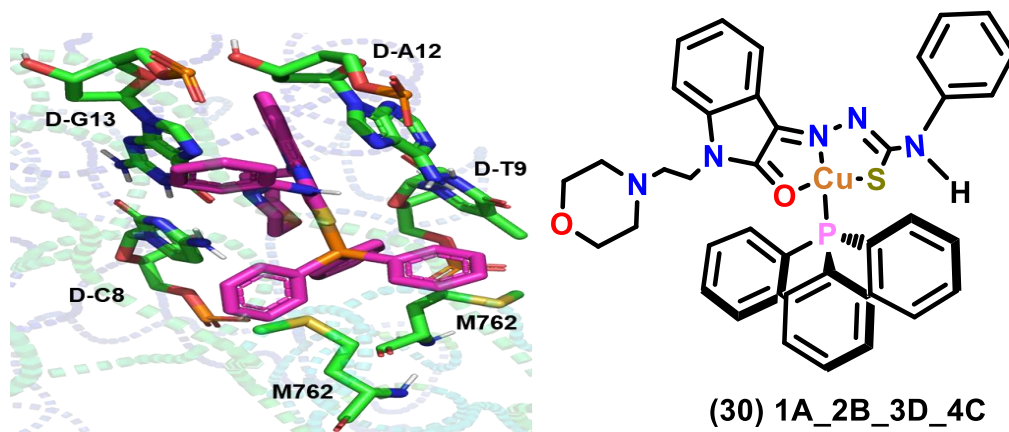


Figura 123. Interações entre o complexo 1A_2B_3D_4C (30) com os resíduos de aminoácidos e as bases do DNA. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

Os resultados na **Figura 123**, mostra interação do tipo empilhamento- π através do anel aromático derivado da isatina com a base purínica da adenina 12 e guanina 13. Ocorre interação eletroestática do tipo ânion- π através da amina substituída com o anel aromático do grupo fosfato pertencente a base purínica da guanina 13. Verifica-se interação de hidrogênio clássica a partir da base purínica da adenina 12 com a função amina pertencente a tiossemicarbazona. O oxigênio pertencente a morfolina realiza interação de hidrogênio não clássica com a base pirimídica da timina 9. Ocorre interação de hidrogênio não clássica do tipo π doador através do anel da trifenilfosfina com a função amina da base pirimídica da citosina 8. Observou-se interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do anel aromático presente na trifenilfosfina com o grupo alquila do resíduo de M762. O anel aromático da trifenilfosfina realiza interação do tipo π -enxofre com o resíduo de M766.

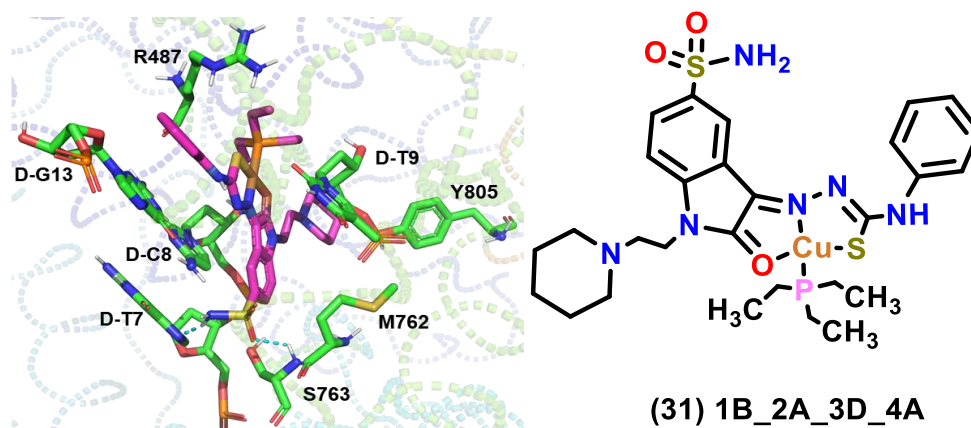


Figura 124. Interações entre o complexo 1B_2A_3D_4A (31) com os resíduos de aminoácidos e as bases do DNA. Interações de hidrogênio estão representadas em azul.

Com ilustrado na **Figura 124**, observa-se interação de hidrogênio não clássica através do anel aromático substituído na tiossemicarbazona com a função amina do resíduo de R487. Alternativamente, houve interação de hidrogênio não clássica através do substituinte piperidina com resíduo de Y085. Ocorre interação do tipo empilhamento- π através do anel aromático substituído na tiossemicarbazona com a base purínica da guanina 13. A cadeia lateral do resíduo de aminoácido de R487, faz interação hidrofóbica do tipo alquila com a etila pertencente a fosfina. O resíduo de aminoácido de R487, realiza interação hidrofóbica do tipo π -alquila com o anel aromático substituído na amina da tiossemicarbazona. O oxigênio da base da isatina realiza interação de hidrogênio não clássica com a base pirimídica da timina 9. A amida da sulfonamida faz interação de hidrogênio clássica com a função amina da base pirimídica citosina 8. O mesmo acontece para a base purínica da guanina 7. A carbonila da sulfonamida realiza interação de hidrogênio clássica com o resíduo de S763. Finalmente, ocorre interação de hidrogênio não clássica através da carbonila da sulfonamida com o resíduo de S763 e o mesmo ocorre com o resíduo de M762.

Com base nos resultados obtidos no sítio ativo do etoposídeo frente aos complexos de cobre II, foi possível observar subunidades estruturais que forneceram maior número de interações com os resíduos e bases do DNA, sendo estas destacadas a seguir **Figura 125**:

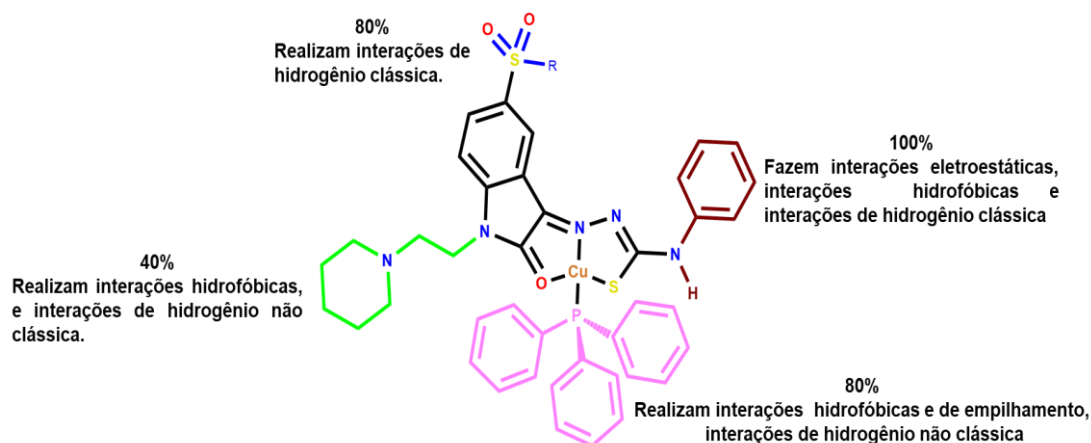


Figura 125. Padrão de substituintes que demonstraram maior número de interações.

Na **Figura 125**, mostra os padrões de complexo de cobre II que foram selecionados por apresentarem maior número de interações com os resíduos do sítio ativo do etoposídeo, dentre eles tem como substituintes: 80% trifenilfosfina (Pink), 100% amina substituída do anel aromático (marrom), 40% piperidina (verde) e 80% as sulfonas (azul). Tal padrão, está relacionado com a presença do grupo doador e aceptor de ligação de hidrogênio, interações hidrofóbicas e eletroestáticas do tipo de empilhamento- π e empilhamento-T que os anéis aromáticos realizam, interações do tipo π -enxofre e interações de hidrogênio não clássica do tipo $\pi \cdots H-C$ com os orbitais π que acumulam concentrações de carga nos anéis aromáticos e ainda, a presença do substituinte N-heterocíclico possibilitou interação hidrofóbica do tipo π -alquila (FOKOUE et al., 2020; OLIVEIRA, 2016).

5.12) Potencial atividade dual frente as enzimas de catepsina (B e L) ou ATP/etoposídeo

Depois da análise dos resultados obtidos através da ancoragem molecular, foi possível verificar que o complexo de paládio II Bipy-CH₃-Cl (**6**) **Figura 126** apresentou maior número de interações com os resíduos de aminoácidos chaves no sítio ativo da catepsina B e com resíduos de aminoácidos das bases nitrogenadas de DNA do sítio do etoposídeo. Paralelamente, também se observou que o complexo de paládio Fen-CH₃-Cl (**8**) **Figura 127** apresentou interações com os resíduos apontados para atividade da enzima de catepsina L e para o sítio de ATP. Assim sendo, pode-se considerar uma possível inibição dual destes complexos frente as enzimas catepsina (B e L) e a enzima topoisomerase II α .

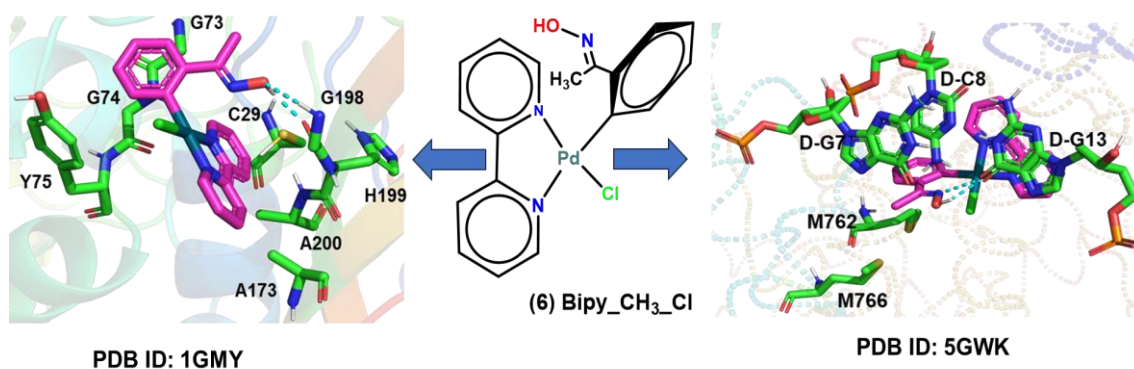


Figura 126. Complexo de paládio Bipy_CH₃_Cl (**6**), que obteve interação com os resíduos de aminoácidos nos sítios de catepsina B e no sítio de etoposídeo.

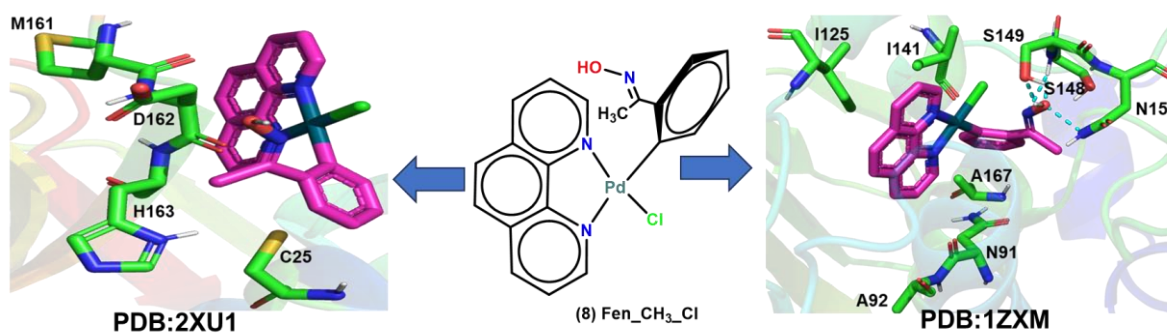


Figura 127. Complexo de paládio Fen_CH₃_Cl (**8**), que obteve interação com os resíduos de aminoácidos nos sítios de catepsina L e no sítio de ATP.

De forma similar, foram analisados 19 complexos de cobre II, ancoradas no sítio ativo das catepsinas B e L, onde foi possível observar que os complexos de cobre 1B_2B_3D_4A (**25**) e 1E_2A_3D_4A (**18**) apresentaram interações relevantes com os resíduos de aminoácidos dessas enzimas como apresentadas na figura

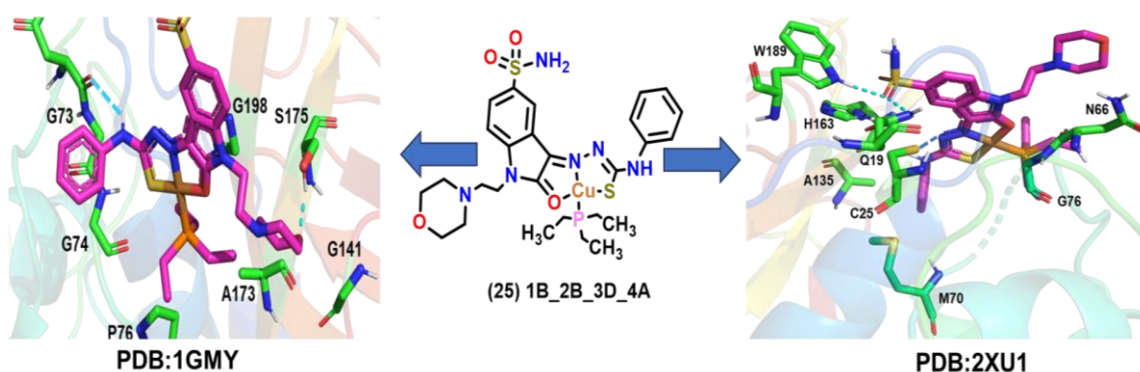


Figura 128. Complexo de cobre 1B_2B_3D_4A (**25**) que obteve interação com os resíduos de aminoácidos nos sítios de catepsina B e L.

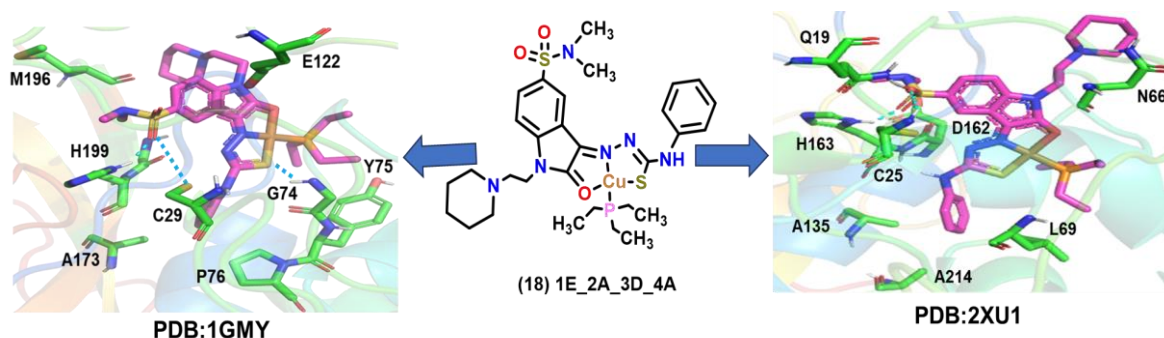


Figura 129. Complexo de cobre 1E_2A_3D_4A (**18**) que obteve interação com os resíduos de aminoácidos nos sítios de cathepsina B e L.

6. ANCORAGEM MOLECULAR DAS SUBSTÂNCIAS DA LITERATURA

Inicialmente, usou-se os softwares de FTsite e FTmap para identificar os sítios de ligação e tipos de interações com os resíduos relevantes a uma distância menor de 5Å da enzima cathepsina B e L. Estes servidores usam pequenas moléculas orgânicas **Anexo 7**, para identificar as regiões de maior contacto, geralmente as regiões mais populosas ou de maior contacto, tendem a ser o sítio de ligação da biomacromolécula (Ngan et al., 2012).

Segundo os resultados apresentados na **Figura 130**, o FTsite na enzima da cathepsina B, identificou três regiões distintas, em que a região mais populosa está representado em (marrom), onde observou-se resíduos de aminoácidos que encobertam o sítio ativo, tais resíduos aminoácidos, estão representados em: dois resíduos catalíticos (C25 e H199), e não catalíticos: sete (G24, G27, G73, G74, G121, G197 e G198) duas (H110 e H111), duas (A173 e A200), duas (C26 e C119), dois (W30 e W221), uma (M196), uma (V176), uma (P76), uma (Y75), uma (T120), uma (Q23) e uma (S25). Por outro lado, podemos verificar a segunda região populosa representado em (verde) **Figura 130**, onde o sítio de ligação esta encoberto por resíduos de aminoácidos tais como: R21, L93, I20, T223, N222, D22, P107 e Y94. Finalmente, observa-se a região menos populosa representado por azul na **Figura 130**, é rodeado de resíduos de E133, P102, Y103, S104, E57, R101, C100. Paralelamente a **Figura 131**, mostra o volume do sítio ativo da cathepsina B.

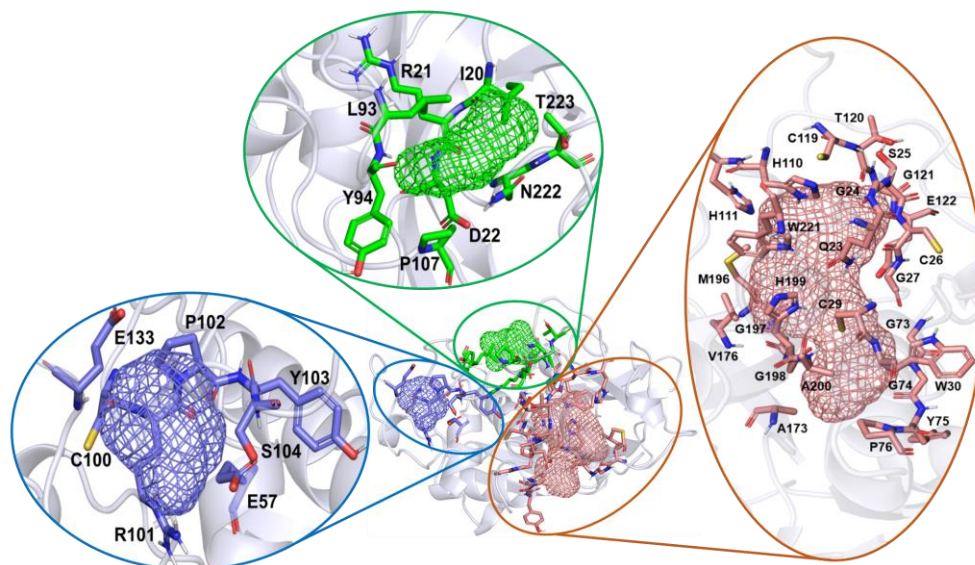


Figura 130. Sítio ativos identificados pelo Ftsite da enzima catepsina B (PDB 1GMV), os aminoácidos representados estão a uma distância menor de 5Å.

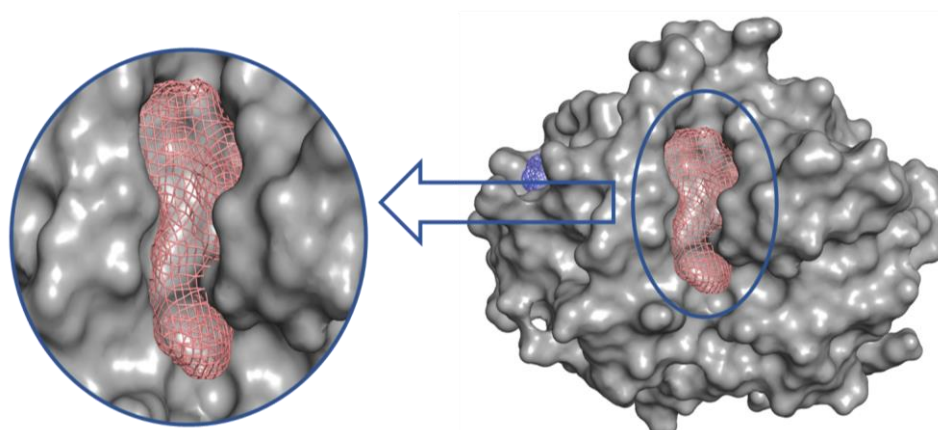


Figura 131. O volume do sítio ativo = 347 Å da catepsina B PDB ID (1GMV) representado em roxo.

Assim terminada a análise do sítio ativo da catepsina B, foi realizada análise dos resultados da catepsina L, onde foi identificado a região mais populosa representado em (verde), como vista na **Figura 132**, onde foi possível observar que a presença de dois resíduos catalíticos (H163 e C25) e não catalíticos: três (G67, G68, G164), dois de (M70, M161), um de (D162), um de (W26), um de (L69), um de (I136), um de (A135). Adicionalmente, verificou-se a partilha de resíduos de aminoácidos de (C25 e D162), a partir da região mais populosa com a segunda região populosa como ilustrado na **Figura 132**, está aproximação é suficiente ao ponto de partilharem o ligante. A região populosa em (marrom), está representado por resíduos não catalíticos tais como: dois de (G20 e G139), dois de (Q19 e Q21), e um resíduo de aminoácido respetivamente de (W189, C22, S24, N18, A138 e S188). Finalmente, foi identificado a região menos populosa

representado em azul. Paralelamente, na **Figura 133** observa-se o valor do volume do sítio ativo da enzima de catepsina L.

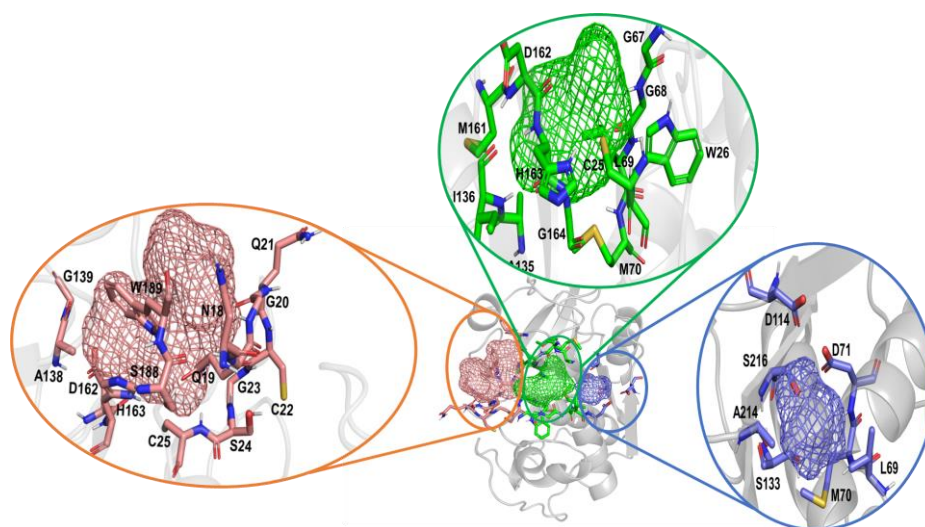


Figura 132. Regiões de sítio ativo identificado pelo FTsite da enzima catepsina L (PDB 2XU1), os aminoácidos representados estão a uma distância menor de 5Å.

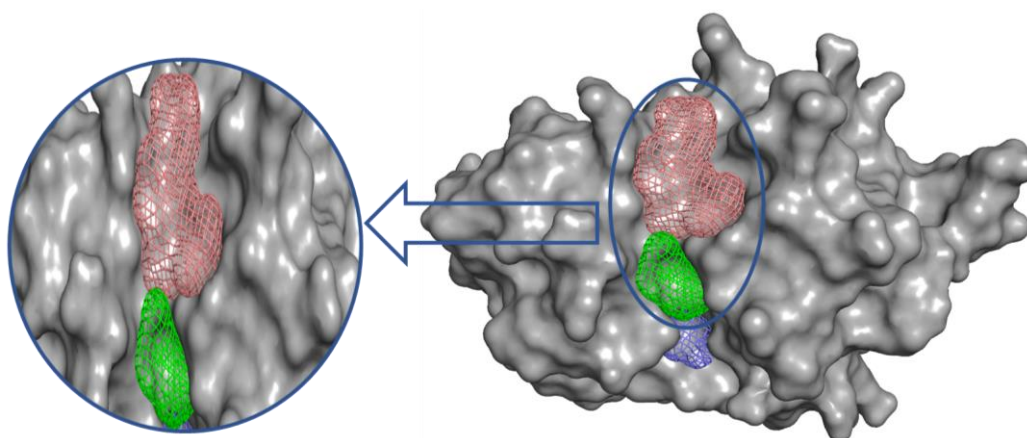


Figura 133. Volume do sítio ativo = 154 Å da catepsina L PDB ID (2XU1), representado em verde e em roxo.

De forma similar, fez-se o cálculo usando o software de FTMap, onde foi possível verificar os resultados agrupados em consenso Cs, em formato de bastões. Os solventes orgânicos usados para o cálculo, levam em consideração o tamanho, forma e polaridade, com isso, foi possível identificar várias formas de interação dos resíduos de aminoácidos no sítio ativo das proteínas. De acordo com os resultados apresentados na **Figura 134**, a cavidade 1 foi a que apresentou maior afinidade de ligação com os solventes orgânicos, estes resultados quando relacionados com os resultados adquiridos pelo FTSite, levam-nos a concluir que as regiões mais populosas tendem a ser a cavidade de interesse.

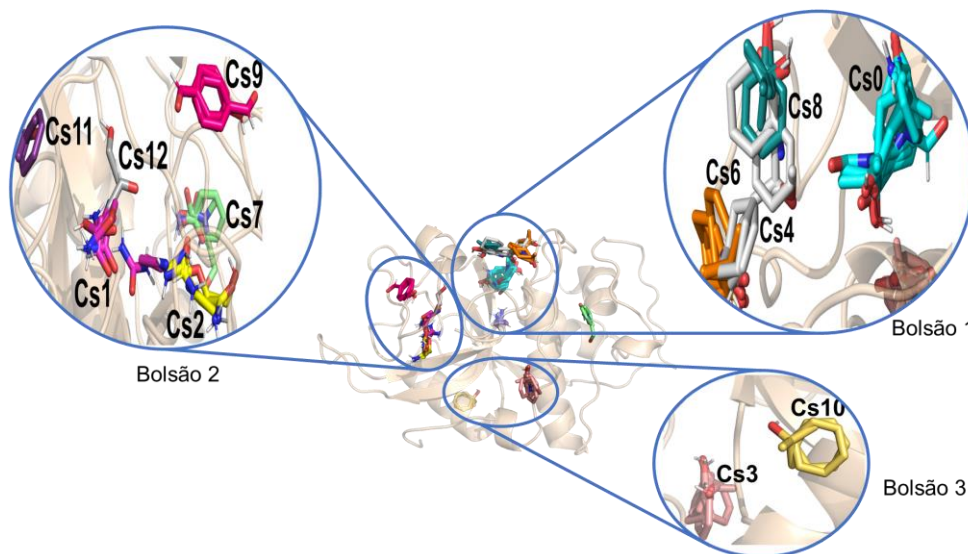


Figura 134. Sítios ativos do cálculo de sondagem do FTMap no sítio da catepsina B (PDB ID: 1gmy). O bolsão 1 apresentou melhor afinidade ao se ligar com os com maior número de solventes.

Adicionalmente, o FTMap identificou os resíduos com maiores probabilidades de realizarem interações de hidrogênio e interações hidrofóbicas, entretanto, no **Gráfico 2**, são ilustrados os resíduos de aminoácidos que realizam interações de hidrogênio clássica, paralelamente no **Gráfico 3**, são observados resíduos de aminoácidos que realizam interações hidrofóbicas. Os resultados teóricos da triagem do FTMap no sítio ativo da catepsina B, quando comparados com os resultados de ancoragem molecular dos ligantes da literatura, mostram uma consistência dos resultados, onde nota-se interações de ligações de hidrogênio envolvendo os seguintes aminoácidos, Q23, C29, G74, H110, H111, H199, G198 e W211, assim como o servidor FTMap previu. Do mesmo modo, foi observado para os aminoácidos que fazem interações hidrofóbicas, onde os resultados do FTMap, mostrou uma similaridade nos resultados.

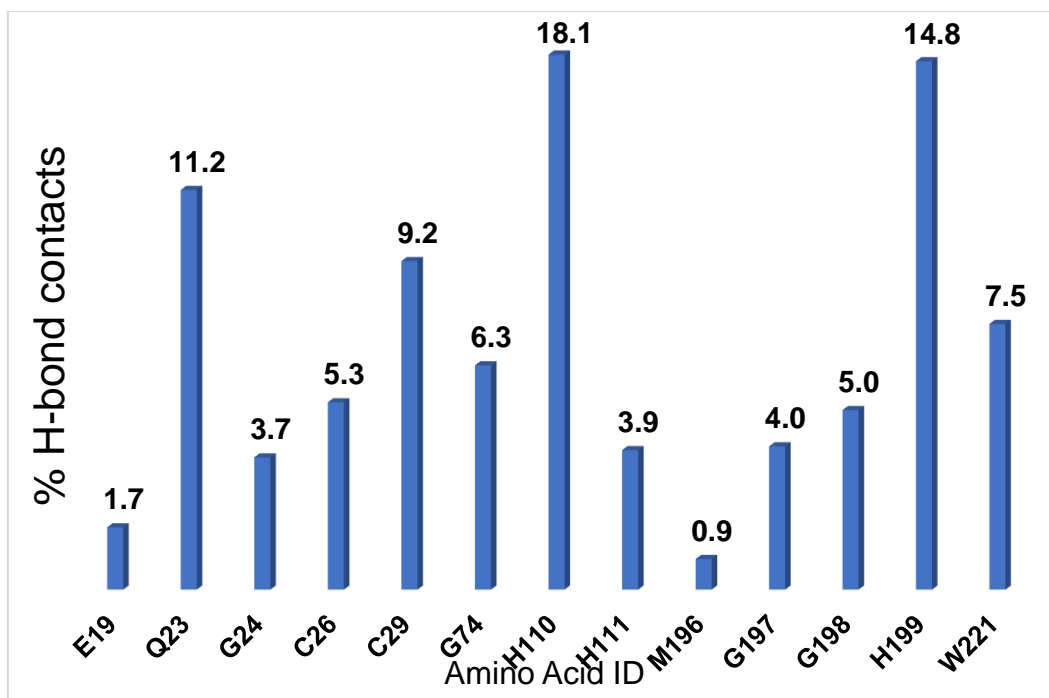


Gráfico 2. aminoácidos com interações de hidrogênio, % acima de 3,9 representam aminoácidos com probabilidade maior de realizarem interações de hidrogênio.

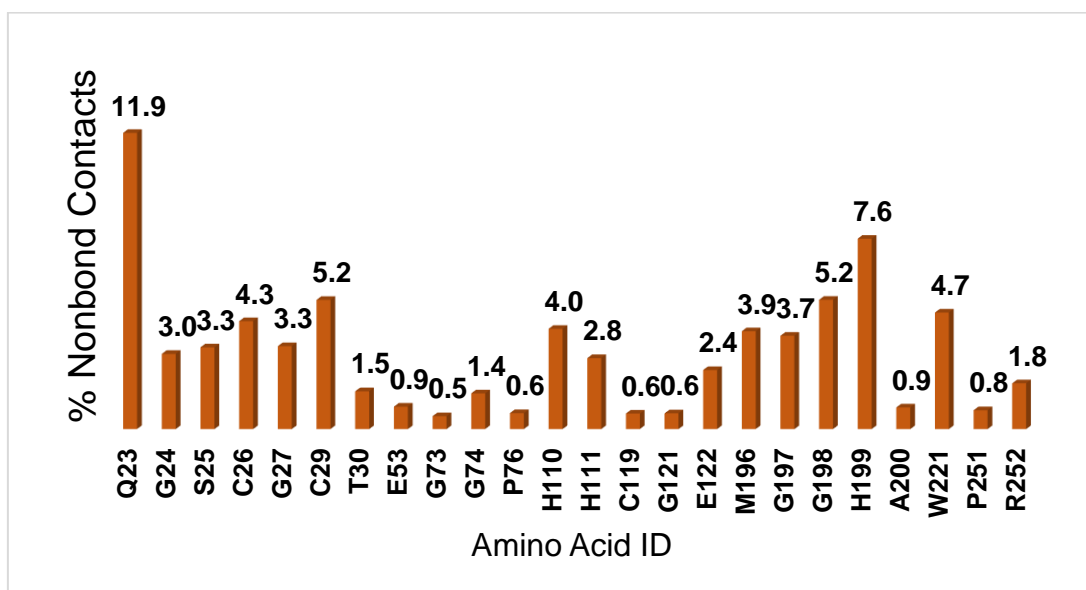


Gráfico 3. aminoácidos com interações hidrofóbicas, % acima de 2,7 representam aminoácidos com probabilidade maior das suas cadeias realizarem hidrofóbicas.

Na catepsina L, o FTMap mostrou resultados similares aos da catepsina B, visto que o resultado da **Figura 135**, mostrou maior afinidade através de solventes orgânicos padronizados no software com a cavidade ou bolsão 1.

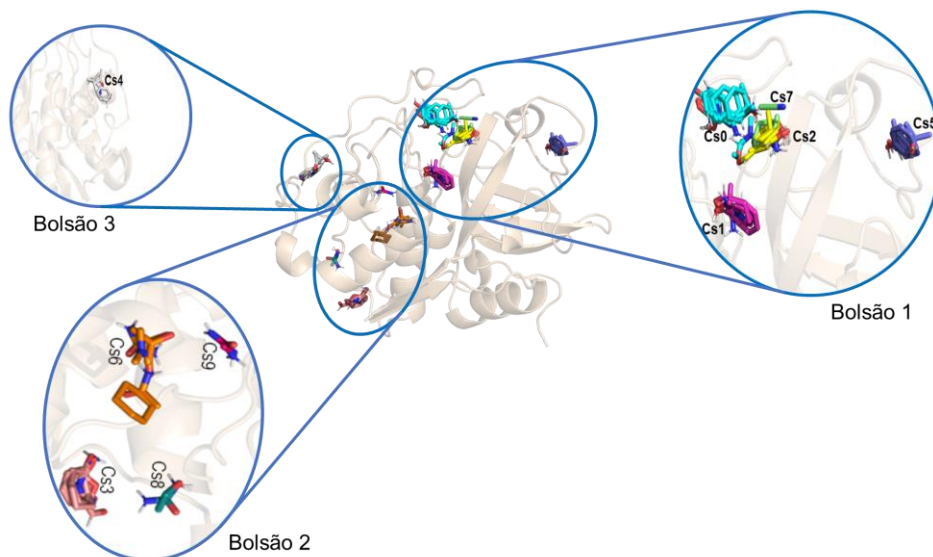


Figura 135. Principais sítios ativos do cálculo da sondagem do FTMap no sítio da catepsina L (PDB ID: 2xu1) localizados em três bolsões. O bolsão 1 apresentou melhor afinidade ao se ligar com os com maior número de solventes.

No **Gráfico 4**, são mostrados os resíduos de aminoácidos que realizam interações de hidrogênio clássica de acordo com os resultados obtidos pelo FTMap. De outro lado, no **Gráfico 5**, são ilustrados os resíduos de aminoácidos que realizam interações hidrofóbicas. Comparado os dados teóricos fornecidos pelo FTmap com os resultados computacionais dos ligantes da literatura, constatou-se que há uma similaridade das interações.

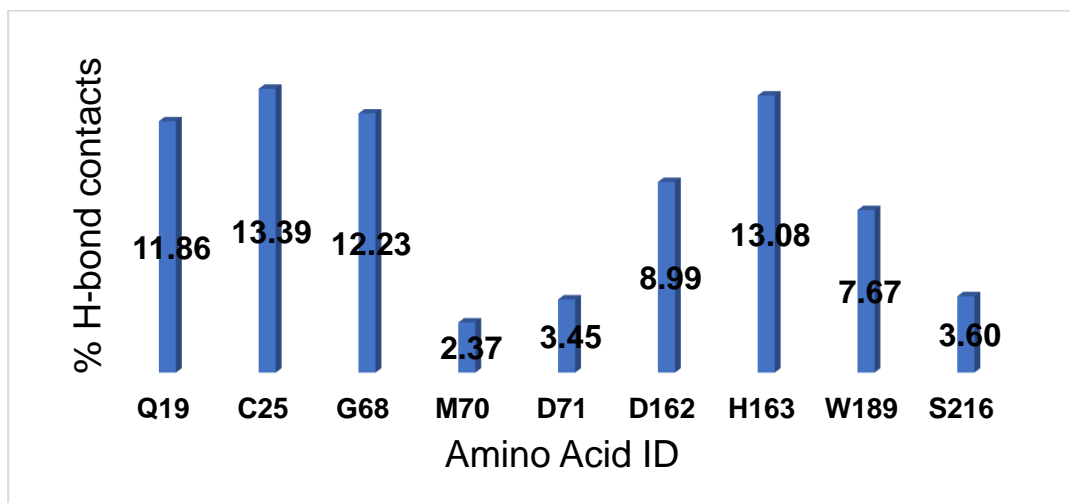


Gráfico 4. Aminoácidos com interações de hidrogênio, % acima de 7 representam aminoácidos com probabilidade maior de realizarem interações de hidrogênio.

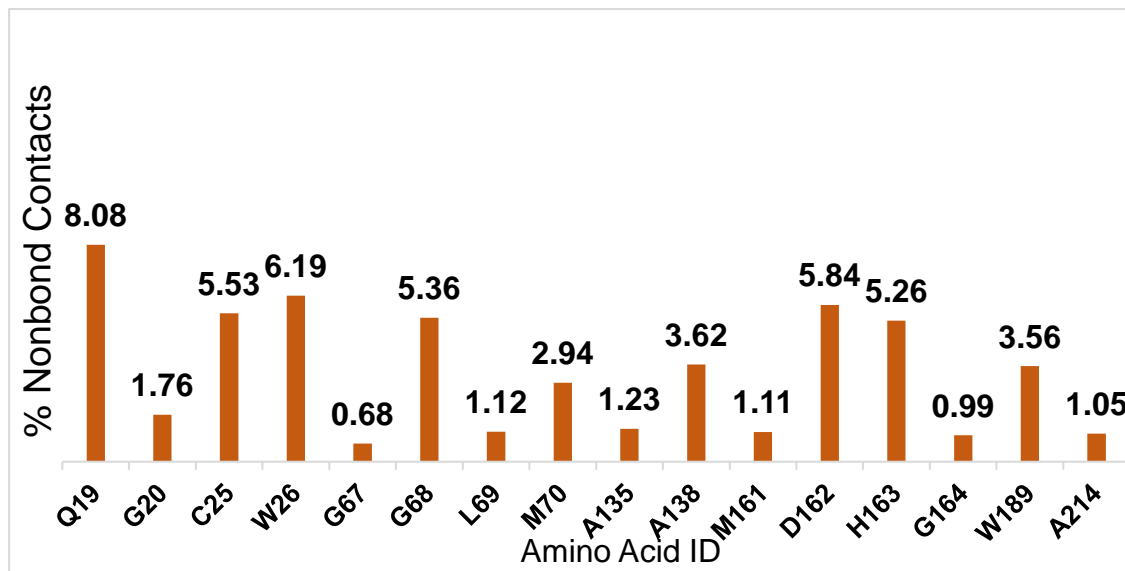
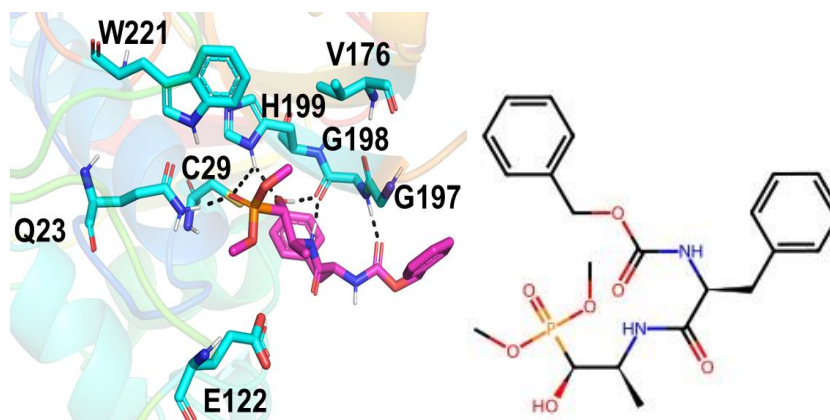


Gráfico 5. aminoácidos com interações hidrofóbicas, % acima de 3 representam aminoácidos com probabilidade maior das suas cadeias realizarem hidrofóbicas.

Depois da análise dos resultados de FTSite e FTMap, seguiu-se à etapa de ancoragem molecular de substâncias da literatura frente a enzima da catepsina B, co-cristalizada com a dipeptidil nitrila (PDB ID: 1GMV). Assim sendo, foram descritos abaixo as cinco substâncias da literatura que interagiram com o maior número de aminoácidos do sítio ativo e que apresentaram melhores valores de pontuação (GREENSPAN et al., 2001).



7a_a

Figura 136. ligante da literatura no sítio ativo da catepsina B com $K_i = 21.0 \pm 6$ nM (DRAĞ et al., 2013).

Com base no resultado apresentado na **Figura 136**, observa-se que a carbonila pertencente a fosfato faz interação de hidrogênio clássica com a função amida do resíduo de Q23, a mesma interação verifica-se com a amina do anel imidazólico do resíduo de H199. A hidroxila do ligante realiza interação de hidrogênio clássica com o grupo carbonílico do resíduo de G198, a mesma interação viu-se com o anel imidazólico do resíduo de H199. Ocorre interação de hidrogênio não clássica através do anel imidazólico do resíduo de H199 com a carbonila pertencente a fosfato. Verifica-se interação de hidrogênio através da carbonila do resíduo de G198 com o grupo amida do ligante. Observou-se interação de hidrogênio não clássica entre o resíduo de G197 com a carbonila do ligante, o mesmo ocorre com os resíduos de E122 e H199. Ocorre interação hidrofóbica do tipo π -Alquila através do anel aromático do resíduo do W30 com o grupo alquila do ligante o mesmo tipo de interação ocorre com anel imidazólico do resíduo de H199. Ocorre interação hidrofóbica do tipo alquila através da cadeia lateral do resíduo da V176 com o grupo alquila do ligante. Finalmente, houve interação hidrofóbica do tipo π -Alquila, através do anel de cinco membros pertencente a W221 com o grupo etila pertencente a fosfato.

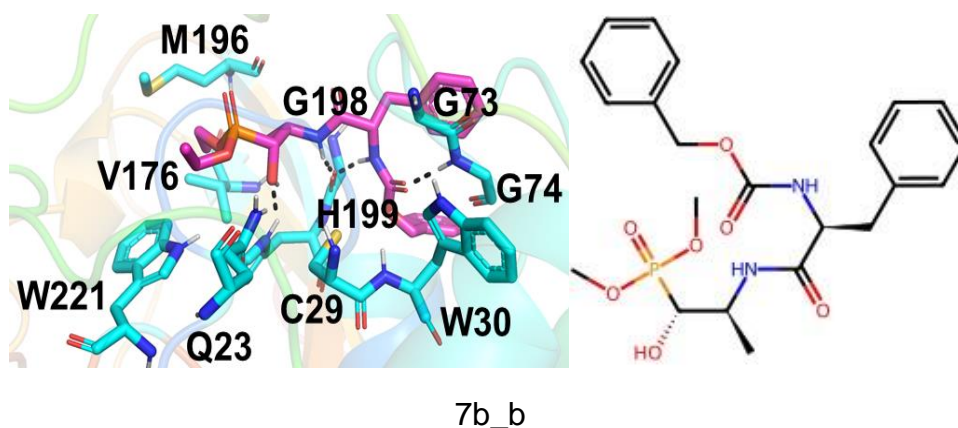


Figura 137. ligante da literatura no sítio ativo da catepsina B com $K_i = 60.0 \pm 5nM$ (DRAÇG et al., 2013).

Os resultados apresentados na **Figura 137**, mostra interação de hidrogênio clássica a partir da carbonila do resíduo de G198 com o grupo amida do ligante. A carbonila do ligante realiza interação de hidrogênio clássica com a ligação amídica do resíduo de G73, 74. A função amina do resíduo de G73, faz interação de hidrogênio não clássica com a carbonila do ligante, o mesmo acontece com o resíduo de aminoácido de W30. Ocorre interação de hidrogênio clássica através do ligante com a carbonila do resíduo de G74. O oxigênio do grupo fosfato, realiza interação de hidrogênio clássica

com o grupo amida do resíduo de Q23. Finalmente, verificou-se interação hidrofóbica do tipo alquila entre o grupo alquila do ligante e com a cadeia lateral do resíduo de V176, o mesmo ocorre com o resíduo de M196.

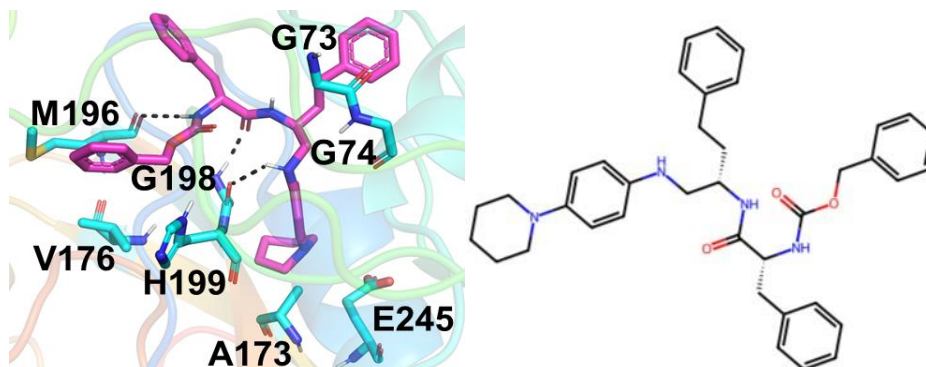


Figura 138. ligante da literatura no sítio ativo da catepsina B com $K_i = 167,0$ nM ChemBL 169448 (KIM et al., 2004).

Na **Figura 138**, verifica-se interação de hidrogênio não clássica através da carbonila do resíduo de G74 com o ligante (**169448**). Ocorre interação hidrofóbica tipo empilhamento amida- π através do anel aromático do ligante com a ligação peptídica entre os resíduos da G73 e 74. O resíduo de aminoácido de G198, realiza interação de hidrogênio clássica, com a amida do ligante (**169448**). Verificou-se interação hidrofóbica tipo empilhamento amida- π através do anel aromático do ligante com a ligação peptídica dos resíduos da G198-H199. A carbonila pertencente ao resíduo de M196, realiza interação de hidrogênio através da função amida do ligante (**169448**). As cadeias laterais de resíduos de aminoácidos de A173 e V176 fazem interações hidrofóbicas tipo π -alquila, com o anel aromático do ligante (**169448**). O grupo carboxilato do resíduo de E245, faz interação de hidrogênio não clássica com a piperina do ligante (**169448**).

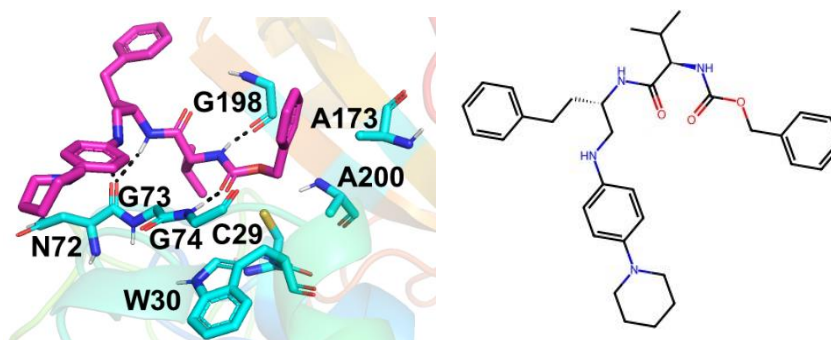


Figura 139. ligante da literatura no sítio ativo da catepsina B com $K_i = 7,0$ nM ChemBL 171403 (KIM et al., 2004).

Com base na **Figura 139**, foi possível observar interação de hidrogênio clássica através da carbonila do resíduo de G198 com a função amida do ligante (**171403**), o mesmo ocorre através do resíduo do aminoácido de N72. A função amina do resíduo de G74, realiza interação de hidrogênio com a carbonila do ligante (**171403**). Ocorre interação de hidrogênio não clássica através da carbonila do ligante (**171403**) com os resíduos da G73 e com o resíduo de W30. Verificou-se interação hidrofóbica tipo π -alquila através do anel aromático pertencente ao ligante (**171403**) com a cadeia lateral do resíduo de A173. Finalmente, ocorre interação hidrofóbica tipo alquila, através da cadeia lateral do resíduo de C29 com a metila do ligante (**171403**).

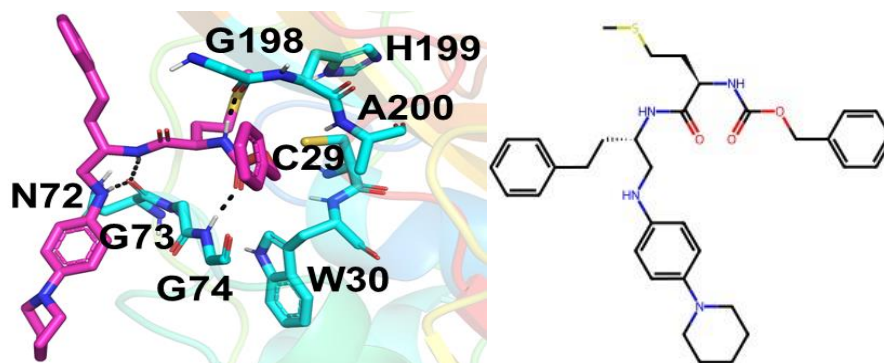


Figura 140. ligante da literatura no sítio ativo da catepsina B com $K_i = 12,0$ nM ChemBL 172456 (KIM et al., 2004).

Os resultados mostrados na **Figura 140**, ilustram interação de hidrogênio clássica através da carbonila do resíduo de G198 com a função amida do ligante (**172456**), o mesmo ocorre através do resíduo do aminoácido de N72. A função amina do resíduo de G74, realiza interação de hidrogênio clássica com a carbonila do ligante (**172456**). Ocorre interação de hidrogênio não clássica através da carbonila do ligante (**172456**) com os resíduos da G73 e com W30. A carbonila do resíduo de G74 realiza interação de hidrogênio não clássica com a metila da subunidade éster do ligante (**172456**). Finalmente, verifica-se interação de hidrogênio clássica através do oxigênio da subunidade metil éster do ligante (**172456**) com a função amina do resíduo de A200.

Para a estrutura da catepsina L, co-cristalizada (2S,4R)-1-[1-(4-clorofenil)ciclopropil-carbonil-4-(2-clorofenil)sulfonil-N-[1-(iminometil)ciclopropil-pirrolidina-2-carboxamida (PDB ID: 2xu1), foram descritos abaixo as cinco substâncias da literatura que interagiram com o maior número de aminoácidos do sítio ativo e que apresentaram melhores valores de pontuação (HARDEGGER et al., 2011).

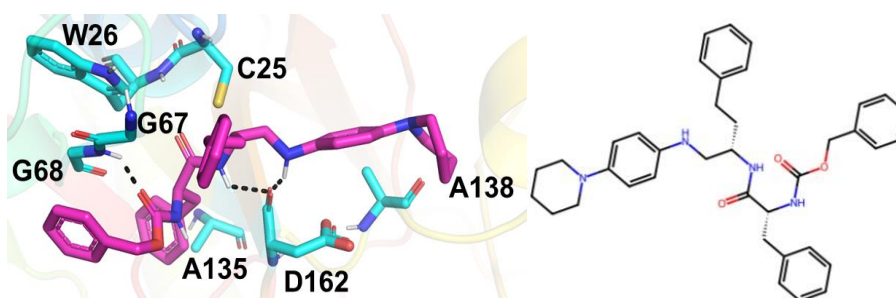


Figura 141. ligante da literatura no sítio ativo da catepsina L com $K_i = 1$ nM ChemBL 169448 (KIM et al., 2004).

Os resultados apresentados na **Figura 141**, mostram que a carbonila do resíduo de D162 realiza interação de hidrogênio com a amida do ligante (**169448**). O mesmo verifica-se através da carbonila do ligante com a função amida do resíduo de G68. Observou-se interação hidrofóbica do tipo π -alquila através da cadeia lateral do resíduo de A135 com o anel aromático do ligante (**169448**). A carbonila do resíduo de G68 e do resíduo do aminoácido de D162, realizam interação de hidrogênio não clássica com o ligante **169448**. Ocorre interação de hidrogênio não clássica através do resíduo de G67 com a carbonila do resíduo do ligante **169448**. A carbonila do resíduo de A138, realiza interação de hidrogênio não clássica com o ligante **169448**. Finalmente, verificou-se interação de hidrogênio não clássica através do grupo tiol do resíduo de C25 com a carbonila do ligante **169448**.

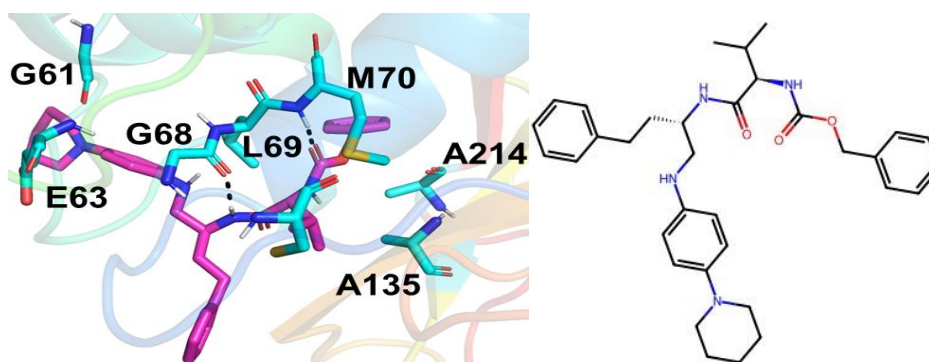


Figura 142. ligante da literatura no sítio ativo da catepsina L com $K_i = 1$ nM ChemBL 171403 (KIM et al., 2004).

Com base no resultado da **Figura 142**, foi possível observar uma interação de hidrogênio clássica através da amina do resíduo de M70 com o ligante (**171403**). Verifica-se interação de hidrogênio não clássica a partir do resíduo de L69 com a carbonila do ligante (**171403**). A carbonila do resíduo de G68, realiza interação de hidrogênio com a amida do ligante (**171403**). O resíduo de G68, faz interação de hidrogênio não clássica com o ligante (**171403**), a mesma interação verifica-se com o resíduo de G61. Observa-se interação hidrofóbica tipo π -alquila através da cadeia lateral do resíduo de L69 com o anel aromático do ligante, o mesmo acontece com o resíduo de A214. realiza interação hidrofóbica do tipo alquila através da cadeia lateral do resíduo de A135 com o grupo metila do ligante (**171403**), a mesma interação verifica-se com o resíduo de C25. Paralelamente, ocorre interação de hidrogênio não clássica através do resíduo do E63 com a subunidade de piperidina do ligante (**171403**).

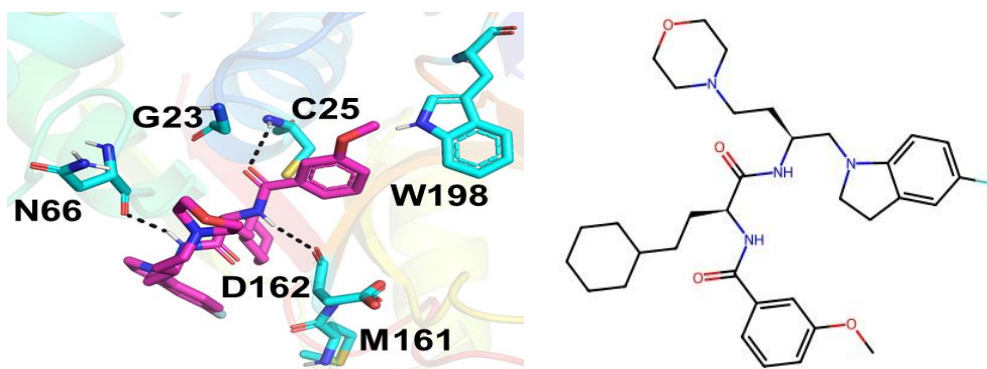


Figura 143. ligante da literatura no sítio ativo da catepsina L com $K_i = 5$ nM ChemBL 203052 (ALPER et al., 2006).

O resultado representado na **Figura 143**, mostra interação de hidrogênio através da carbonila da M161 com flúor substituído no anel aromático. A amina do resíduo de C25, realiza interação de hidrogênio com a carbonila do ligante (**203052**). A carbonila do resíduo do D162 realiza interação de hidrogênio com a amida do ligante (**203052**), o mesmo acontece com o resíduo de N66. O resíduo de G23, realiza interação de hidrogênio não clássica com o ligante (**203052**), o mesmo acontece com o resíduo de N66. Ocorre interação hidrofóbica tipo π -alquila através da cadeia lateral do resíduo de C25 com anel aromático do ligante (**203052**). O anel de cinco membros do resíduo do W189, realiza interação hidrofóbica do tipo π -alquila com o ligante (**203052**).

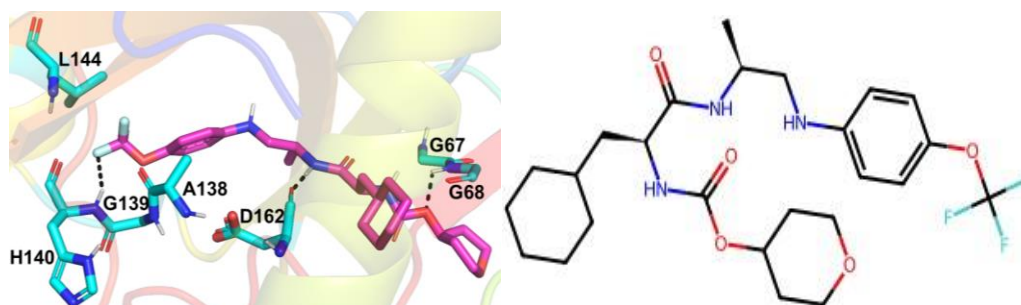


Figura 144. ligante da literatura no sítio ativo da catepsina L com $K_i = 75$ nM ChemBL 212176 (TULLY et al., 2006).

Com base na figura **Figura 144**, foi possível observar que carbonila do resíduo de D162 realiza interação de hidrogênio com a amida do ligante (**212176**). O mesmo verifica-se através do oxigênio do ligante com a função amina do resíduo de G68. Ocorre interação de hidrogênio não clássica através do resíduo de G67, G139 com o ligante (**212176**). A carbonila do resíduo do D162, realiza interação de hidrogênio não clássica com o ligante (**212176**). Observou-se interação de halogênio através do átomo de flúor substituído no ligante (212176) com a carbonila do resíduo de H140 e o resíduo de A138. Verificou-se interação hidrofóbica do tipo alquila através da cadeia lateral do resíduo de L144 com o ligante. Paralelamente, ocorre interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do anel aromático do ligante a cadeia lateral do resíduo de A138. Observa-se interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do anel de 6 membros com a cadeia lateral do resíduo de A135. Ocorre interação de hidrogênio não classifica através da carbonila do resíduo do D162 com o ligante (**212176**), a mesma interação verifica-se com a amina do resíduo do W26. Adicionalmente verifica-se interação hidrofóbica do tipo amida- π através da ligação peptídica do resíduo de H163 e G164.

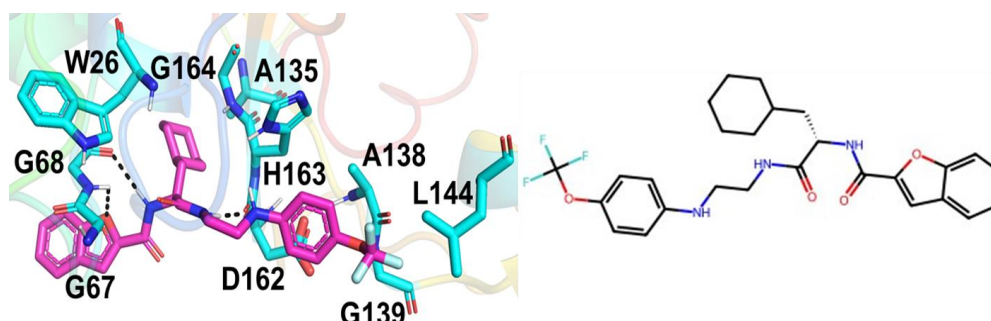


Figura 145. ligante da literatura no sítio ativo da catepsina L com $K_i = 45$ nM ChEMBL 386383 (TULLY et al., 2006).

Os resultados ilustrados na figura **Figura 145**, mostra interação hidrofóbica do tipo alquila através da cadeia lateral do resíduo de L144 com o ligante (**386383**). Verifica-se interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do anel aromático do ligante (**386383**) com

a cadeia lateral do resíduo de A138. Observa-se interação de hidrogênio não clássica através do resíduo de G67, G139 com o ligante (**386383**). A carbonila do resíduo do D162 realiza interação de hidrogênio com a função amida do ligante (**386383**), a mesma interação ocorre com o resíduo de G68. Observou-se interação hidrofóbica do tipo π -alquila através do anel aromático do ligante com a cadeia lateral do resíduo de A138. Finalmente, ocorre interação de halogênio através do átomo de flúor substituído no ligante (**386383**) com a carbonila do resíduo de A138.

Com tudo, para a catepsina B, co-cristalizada com o dipeptidel nitrila, obteve-se as seguintes proporções dos ligantes da literatura com os resíduos do sítio ativo mostradas na **Tabela 14**.

Tabela 14. Proporções (%) das interações dos ligantes da literatura, com os resíduos de aminoácidos do sítio ativo da catepsina B.

	A173	G73-G74	W30	G198	Q23	C29	G27
Muito ativos	14%	0%	71%	95%	71%	42%	14%
Ativos	33%	33%	0%	33%	0%	33%	33%
Pouco ativos	17%	0%	0%	25%	33%	8%	8%
Inativos	0%	0%	11%	0%	55%	9%	0%

Com base na **Tabela 2**, pode-se observar que os ligantes (substâncias da literatura), classificadas como muito ativas, 95% dessas substâncias fazem interações com o resíduo de G198, e quando o nível de atividade vai baixando os ligantes ou substâncias da literatura, as interações ficam mais fracas.

A mesma análise em relação dos ligantes (substâncias da literatura), foi feita no sítio ativo da catepsina L, onde observou-se, através da **Tabela 15** que as substâncias da literatura classificadas como muito ativas, e inativos tiveram interações com os resíduos de aspartato (D162), glicina 68 (G68), e cisteína 25 (C25).

Tabela 15. Proporções (%) das interações dos ligantes da literatura, com os resíduos de aminoácidos do sítio ativo da catepsina L.

	A135	A214	D162	G68	G67	C25	G61	Q19	H163	W26	M161
Muito ativos	48%	3%	90%	69%	62%	59%	10%	17%	24%	38%	3%
Ativos	44%	6%	63%	63%	75%	88%	13%	19%	31%	56%	6%
Pouco ativos	50%	20%	75%	60%	70%	65%	10%	15%	25%	35%	10%
Inativos	100%	0%	100%	67%	67%	33%	33%	33%	33%	76%	0%

Dessa forma, foi possível concluir através das relações demonstradas acima que os resíduos chaves de ambos os sítios ativos da catepsina B e L, apresentam proporções significativas com os ligantes da literatura classificados com “muito ativos”, “ativos”, “pouco ativos” e “inativos” do mesmo modo, foi verificado as mesmas interações com os complexos de cobre e paládio (II) ranqueados pelo modelo in sílico.

7. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

A função de pontuação que apresentou melhor orientação do ligante co-cristalizado na enzima de catepsina B foi a ChemPLP e na enzima de catepsina L foi a GoldScore. Durante as análises dos resultados da ancoragem molecular, foi possível observar que 95% das interações foram reproduzidas em ambas as enzimas. A função de pontuação que apresentou melhor resultado no sítio ativo de etoposídeo e no sítio de ATP foi a ChemPLP. Os resultados da ancoragem molecular dos 32 complexos (20 complexos de cobre e 12 complexos de paládio), mostraram bons resultados em ambos os sítios de ativos, pois elas conseguiram interagir com os resíduos da C29 e H199 para a catepsina B, C25 e H159 para catepsina L, Y805, M766, M762 e as de DNA no sítio de etoposídeo, K378 e N150 para o sítio de ATP. No modo geral os complexos de paládio de forma aberta com ligantes de bipyridina e fenantrolina, conseguiram realizar interações com aminoácidos descritos na literatura, favorecendo interações favoráveis entre os ligantes e os aminoácidos dos sítios das catepsinas (B-L) e do sítio ativo da topoisomerase.

A molécula de água pertencente ao complexo de paládio no sítio ativo da catepsina L e no sítio da topoisomerase, faz interação de hidrogênio clássica com os resíduos de aminoácidos destacados pela literatura. Os complexos de cobre II, no geral conseguiram realizar interações com os resíduos de aminoácidos presentes nos sítios ativos. No entanto, os complexos **(6,8, 18 e 25)** tiveram melhor ranqueamento e interagiram com os resíduos de aminoácidos conservados do sítio ativo de ambos os receptores catepsinas (B, L) e topoisomerasas II alfa, portanto, pode-se considerar uma possível inibição dual destes complexos frente as enzimas catepsina (B, L) e a enzima topoisomerase II α .

O modelo computacional apresentou excelente desempenho quanto às suas predições, sendo que a análise dos ligantes da literatura revelou as interações com os resíduos dos sítios ativos, sendo os resíduos de G198, W30, A173 e Q23 para o sítio da catepsina B e D162, G68, W26, G76 no sítio ativo da catepsina L.

8. REFERÊNCIAS

ALPER, P. B. et al. Arylaminoethyl amides as noncovalent inhibitors of cathepsin S. Part 2: Optimization of P1 and N-aryl. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 16, n. 6, p. 1486–1490, 15 mar. 2006.

American Cancer Society. Disponível em: <<https://www.cancer.org/>>. Acesso em: 3 out. 2022.

BIOVIA. **Dassault Systèmes, Discovery Studio**. San Diego: Dassault Systèmes, 2021.

BUSH, N. G.; EVANS-ROBERTS, K.; MAXWELL, A. DNA Topoisomerases. **EcoSal Plus**, v. 6, n. 2, 2015.

CARRILHO, M. R. et al. Insights into cathepsin-B activity in mature dentin matrix. **Archives of Oral Biology**, v. 117, n. 104830, 1 set. 2020.

CCDC. **The Cambridge Crystallographic Data Center**. Cambridge Reino Unido, 2021.

DHIVYA R. SUDHAN; DIETMAR W. SIEMANN. Cathepsin L targeting in cancer treatment. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 155, p. 105–116, 1 nov. 2015.

DRĄG, M. et al. Toward very potent, non-covalent organophosphonate inhibitors of cathepsin C and related enzymes by 2-amino-1-hydroxy-alkanephosphonates dipeptides. **Biochimie**, v. 95, n. 8, p. 1640–1649, ago. 2013.

FEI YOU; CHANGSHOU GAO. Topoisomerase Inhibitors and Targeted Delivery in Cancer Therapy. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 19, n. 9, p. 713–729, 1 abr. 2019.

FOKOUE, et al. Is there anything new about the molecular recognition applied to medicinal chemistry? **Química Nova**, v. 43, n. 1, p. 78–89, 1 jan. 2020.

FOLKMAN, J. **Role of angiogenesis in tumor growth & metastasis. Seminars in oncology**, 2002.

FRICKER, S. P. Cysteine proteases as targets for metal-based drugs. **Metallomics**, v. 2, n. 6, p. 366–377, 2010.

GREENSPAN, P. D. et al. Identification of dipeptidyl nitriles as potent and selective inhibitors of cathepsin B through structure-based drug design. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 44, n. 26, p. 4524–4534, 20 dez. 2001.

H TURLEY, M. C. S. H. N. N. A. K. I. H. KG. AND A. H. The distribution and expression of the two isoforms of DNA topoisomerase 11 in normal and neoplastic human tissues. **British Journal of Cancer**, v. 75, n. 9, p. 1340–1346, 1997.

HANS-HARTWIG OTTO; TANJA SCHIRMEISTER. **Cysteine Proteases and Their Inhibitors**. [s.l: s.n.].

HARDEGGER, L. A. et al. Systematic investigation of halogen bonding in protein-ligand interactions. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 50, n. 1, p. 314–318, 3 jan. 2011.

HEVENER, ET AL. Recent developments in topoisomerase-targeted cancer chemotherapy. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, v. 8, n. 6, p. 844–861, 1 out. 2018.

INCA. **Estimativa 2020 - Introdução | INCA - Instituto Nacional de Câncer**. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/estimativa/introducao>>. Acesso em: 3 out. 2022.

INSTITUTO NACIONAL DE CANCER. **Ministério da Saúde Instituto**. [s.l: s.n.].

JAMASBI, E. et al. The cell cycle, cancer development and therapy. **Molecular Biology Reports**, v. 49, n. 11, p. 10875–10883, 1 nov. 2022.

JASON M. HANSEN; BENJAMIN R. JACOB; TED B. PIORCZYNSKI. **Oxidative stress during development: Chemical-induced teratogenesis**. **Current Opinion in Toxicology** Elsevier B.V., 1 fev. 2018.

JAWAD FARES. Molecular principles of metastasis_ a hallmark of cancer revisited _ Enhanced Reader. **Spring Nature**, v. 5, p. 2–12, 2020.

JOAQUIM ROCA. Topoisomerase II: A fitted mechanism for the chromatin landscape. **Nucleic Acids Research**, v. 37, n. 3, p. 721–730, 2009.

JOHN SPENCER ET AL. Excellent correlation between cathepsin B inhibition and cytotoxicity for a series of palladacycles. **Dalton Transactions**, n. 48, p. 10731–10735, 31 jul. 2009.

JOYCE H. LEE; JAMES M. BERGER. Cell cycle-dependent control and roles of DNA topoisomerase II. **Genes**, v. 10, n. 11, 1 nov. 2019.

JUDASZ, E. et al. **The Role of Telomerase in Breast Cancer's Response to Therapy. International Journal of Molecular Sciences MDPI** 1 nov. 2022.

KIM, T. S. et al. (4-Piperidinylphenyl)aminoethyl amides as a novel class of non-covalent cathepsin K inhibitors. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 14, n. 1, p. 87–90, 5 jan. 2004.

KLAUNIG, J. E.; WANG, Z. Oxidative stress in carcinogenesis. **Current Opinion in Toxicology**, v. 7, p. 116–121, 1 fev. 2018.

KONDAKA, K.; GABRIEL, I. Targeting DNA Topoisomerase II in Antifungal Chemotherapy. **Molecules**, v. 27, n. 22, p. 1–15, 1 nov. 2022.

LECAILLE, F. et al. Cathepsin V: Molecular characteristics and significance in health and disease. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 88, p. 2–16, 1 dez. 2022.

LEE, J. H.; BERGER, J. M. Cell cycle-dependent control and roles of DNA topoisomerase II. **Genes**, v. 10, n. 11, p. 1–18, 1 nov. 2019.

LÓPEZ-LÁZARO, M. The stem cell division theory of cancer. **Critical Reviews in Oncology/Hematology**, v. 123, p. 95–113, 1 mar. 2018.

LÖSER, R.; PIETZSCH, J. Cysteine cathepsins: Their role in tumor progression and recent trends in the development of imaging probes. **Frontiers in Chemistry**, v. 3, n. JUN 2015.

MARCELLE ALCÂNTRA VIERA ROCHA. **Planejamento estrutural, modelagem molecular e síntese de complexos de cobre (II) como potenciais inibidores da topoisomerase II alfa humana**. Araraquara: Universidade estadual paulista “Júlio Mesquita Filho”, 5 mar. 2021.

MARVINNSKECH. **Copyright © 1998–2023 Chemaxon Ltd.**, 2023.

MATEEV, E. et al. Validation through re-docking, cross-docking and ligand enrichment in various well-resoluted mao-b receptors. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 13, n. 3, p. 1000–1008, 22 jun. 2021.

MOPAC2016. **Mercury.**, 18 dez. 2022.

NATASSJA BUSH G; KATHERINE EVANS-ROBERTS; ANTHONY MAXWELL. DNA Topoisomerases. **EcoSal Plus**, p. 1, 13 fev. 2015.

NAVEEN KUMAR, D. R. et al. Acceleration of pro-caspase-3 maturation and cell migration inhibition in human breast cancer cells by phytoconstituents of rheum emodi rhizome extracts. **EXCLI Journal**, v. 12, p. 462–478, 2013.

NGAN, C. H. et al. FtSite: High accuracy detection of ligand binding sites on unbound protein structures. **Bioinformatics**, v. 28, n. 2, p. 286–287, jan. 2012.

OLIVEIRA, B. G. The formation of the $\pi\cdots H$, $F\cdots H$ and $C\cdots H$ hydrogen bonds on the $C_2H_2\cdots(HF)$, $C_2H_2\cdots 2(HF)$ and $C_2H_2\cdots 3(HF)$ complexes. **Química Nova**, v. 39, n. 3, p. 320–327, 1 abr. 2016.

OTTO, H. H.; SCHIRMEISTER, T. Cysteine proteases and their inhibitors. **Chemical Reviews**, v. 97, n. 1, p. 133–171, 1997.

PARK, M. et al. Breast Cancer Metastasis: Mechanisms and Therapeutic Implications. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 12, p. 2–15, 1 jun. 2022.

PDB. **RCSB PDB: Homepage**. Disponível em: <<https://www.rcsb.org/>>. Acesso em: 9 jun. 2023.

PHILLIPS, M. A. et al. Has Molecular Docking Ever Brought us a Medicine? Em: **Molecular Docking**. [s.l.] InTech, 2018.

POMMIER, Y. Drugging topoisomerases: Lessons and Challenges. **ACS Chemical Biology**, v. 8, n. 1, p. 82–95, 18 jan. 2013.

PYMOL. **The PyMOL Molecular Graphics System.**, 20 ago. 2021.

RAMACHANDRAN PLOT. **Plano de Ramachandran**. Disponível em: <<https://swift.cmbi.umcn.nl/servers/html/ramaplot.html>>. Acesso em: 9 jun. 2023.

SCHMITZ, J. et al. Cathepsin B: Active site mapping with peptidic substrates and inhibitors. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 27, n. 1, p. 1–15, 1 jan. 2019.

SELAS, A. et al. **A patent review of topoisomerase I inhibitors (2016–present). Expert Opinion on Therapeutic Patents** Taylor and Francis Ltd., 2021.

SIMON P. FRICKER. Cysteine proteases as targets for metal-based drugs. **Metallomics**, v. 2, n. 6, p. 366–377, jun. 2010.

SIVAGANESH, V. et al. Protein tyrosine phosphatases: Mechanisms in cancer. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 23, p. 1–19, 1 dez. 2021.

SWAN, R. L.; COWELL, I. G.; AUSTIN, C. A. Mechanisms to Repair Stalled Topoisomerase II-DNA Covalent Complexes. **Molecular Pharmacology**, v. 101, n. 1, p. 24–32, 1 jan. 2022.

TULLY, D. C. et al. Synthesis and SAR of arylaminoethyl amides as noncovalent inhibitors of cathepsin S: P3 cyclic ethers. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 16, n. 19, p. 5112–5117, 1 out. 2006.

UMBREIT, N. T. et al. Mechanisms generating cancer genome complexity from a single cell division error. **Science**, v. 368, n. 6488, p. 1–15, 17 abr. 2020.

VITO TURKA et al. **Lysosomal cathepsins: structure, role in antigen processing and presentation, and cancer** *Advan. Enzyme Regul.* [s.l: s.n.].

WEI, H. et al. Nucleotide-dependent domain movement in the ATPase domain of a human type IIA DNA topoisomerase. **Journal of Biological Chemistry**, v. 280, n. 44, p. 37041–37047, 4 nov. 2005.

WILLENBROCK, F.; BROCKLEHURST, K. A general framework of cysteine-proteinase mechanism deduced from studies on enzymes with structurally different analogous catalytic-site residues Asp-158 and-161 (papain and actinidin), Gly-196 (cathepsin B) and Asn-165 (cathepsin H) Kinetic studies up to pH8 of the hydrolysis of N-a-benzyloxycarbonyl-L-arginyl-L-arginine 2-naphthylamide catalysed by cathepsin B and of L-arginine 2-naphthylamide catalysed by cathepsin H. **Biochemistry Journal**, v. 227, p. 521–528, 1985.

WILLENBROCK, F.; BROCKLEHURST, K. Chemical evidence for the pH-dependent control of ion-pair geometry in cathepsin B Benzofuroxan as a reactivity probe sensitive

to differences in the mutual disposition of the thiolate and imidazolium components of cysteine proteinase catalytic sites. **Biochemistry Journal**, v. 238, n. 6, p. 103–107, 1986.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **PRESS RELEASE N° 292**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<https://gco.iarc.fr/>>. Acesso em: 3 out. 2022.

XIONG, S.; DONG, L.; CHENG, L. Neutrophils in cancer carcinogenesis and metastasis. **Journal of Hematology and Oncology**, v. 14, n. 1, p. 2–17, 1 dez. 2021.

YASUDA, K. et al. Regulation of catalytic activity and nucleolar localization of rat dna topoisomerase $\text{ii}\alpha$ through its c-terminal domain. **Genes and Genetic Systems**, v. 95, n. 6, p. 291–302, 2020.

YOON, M. C. et al. Molecular Features of CA-074 pH-Dependent Inhibition of Cathepsin B. **Biochemistry**, v. 61, n. 4, p. 228–238, 15 fev. 2022.

YOON, M. C.; HOOK, V.; O'DONOGHUE, A. J. Cathepsin B Dipeptidyl Carboxypeptidase and Endopeptidase Activities Demonstrated across a Broad pH Range. **Biochemistry**, v. 61, n. 17, p. 1904–1914, 6 set. 2022.

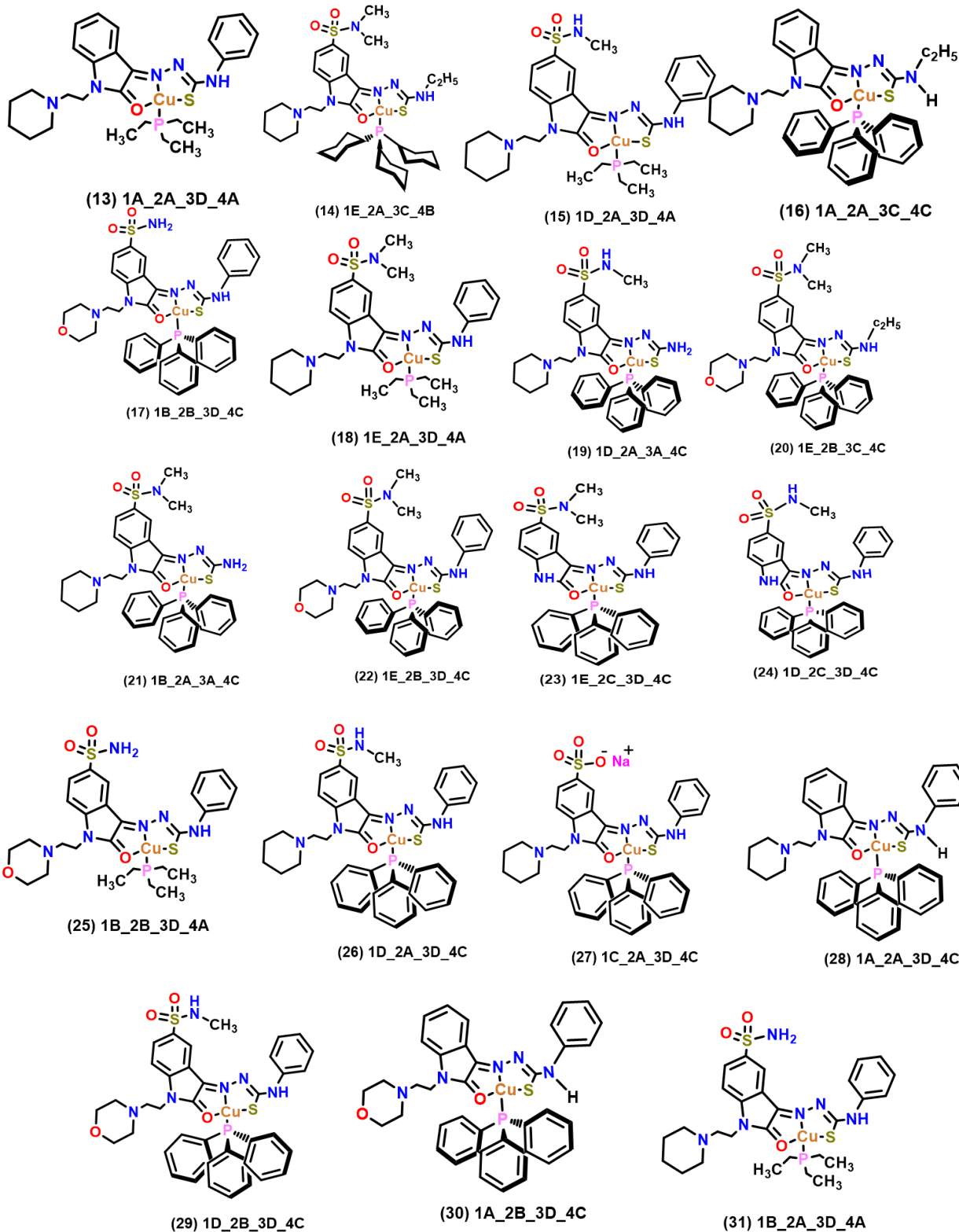
YU-YAO LI; JING FANG; GUI-ZHEN AO. **Cathepsin B and L inhibitors: a patent review (2010 - present)**. **Expert Opinion on Therapeutic Patents** Taylor and Francis Ltd, , 3 jun. 2017.

YVES POMMIER et al. Roles of eukaryotic topoisomerases in transcription, replication and genomic stability. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 17, n. 11, p. 703–721, 1 nov. 2016.

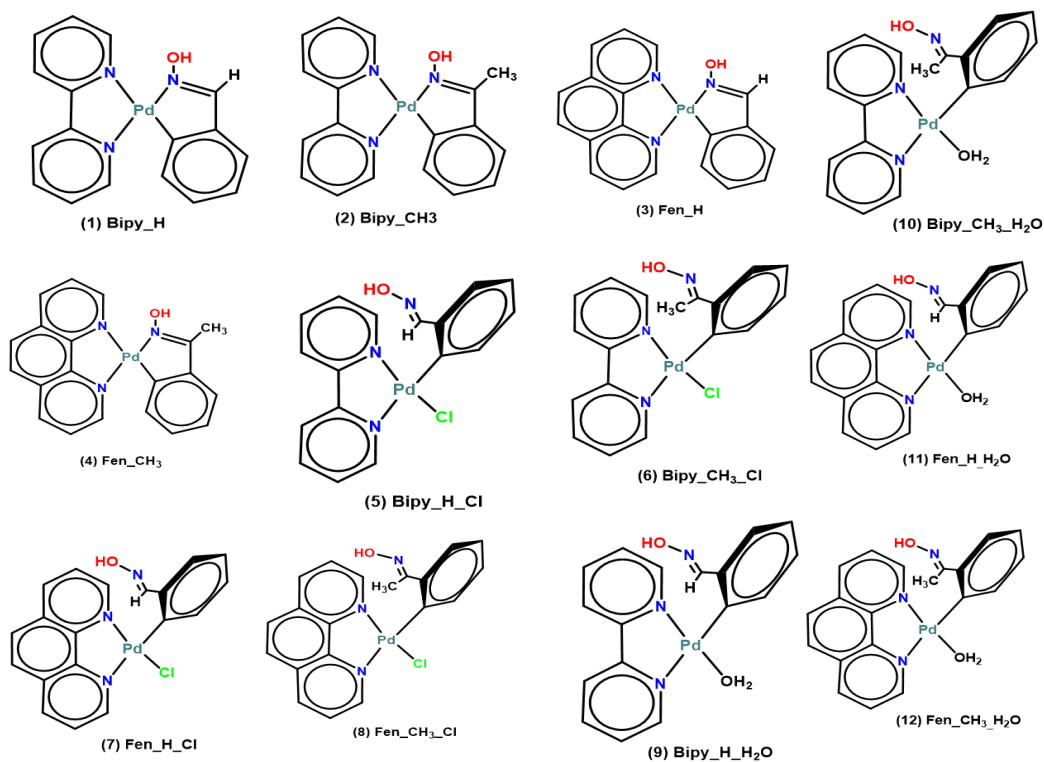
ZAGNOLI-VIEIRA, G.; CALDECOTT, K. W. Untangling trapped topoisomerases with tyrosyl-DNA phosphodiesterases. **DNA Repair**, v. 94, 1 out. 2020.

9. ANEXOS

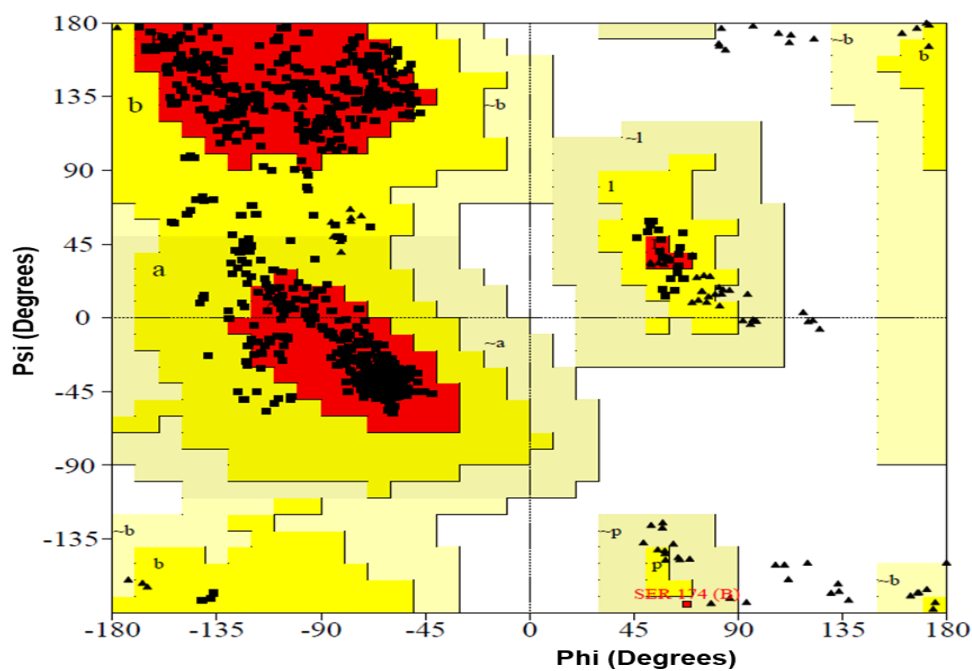
Anexo 1. Estrutura dos 20 complexos de Cobre triados nos sítios de topoisomerase II alfa.



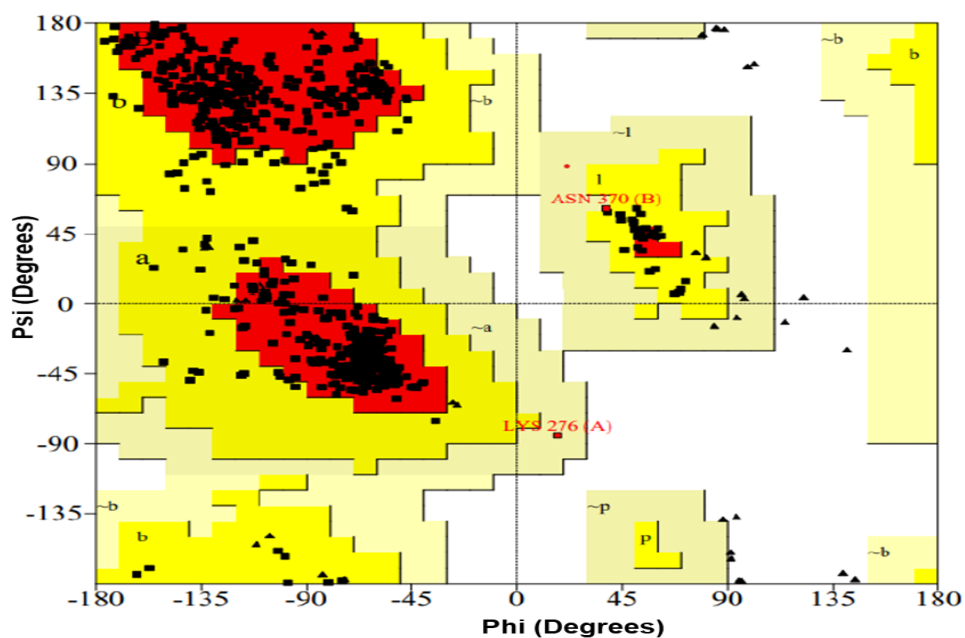
Anexo 2. Estrutura dos 12 complexos de paládio obtidos num trabalho recente no grupo de pesquisa do laboratório de química inorgânica do Prof. Adelino Godoi Neto pela doutoranda Bárbara Regina Santos Feitosa.



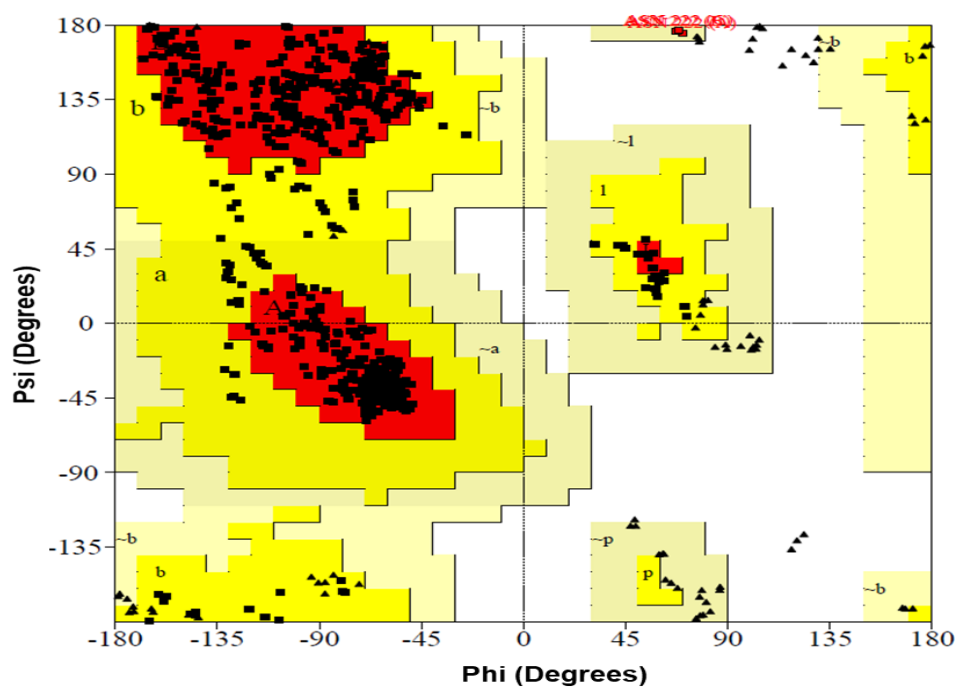
Anexo 3. Gráfico de Ramachandran para enzima da catepsina L co-cristalizada com Nitrila (PDB ID: 2XU1) e o mostrando a distribuição dos resíduos nas regiões, favoráveis, permitidas e não permitidas.



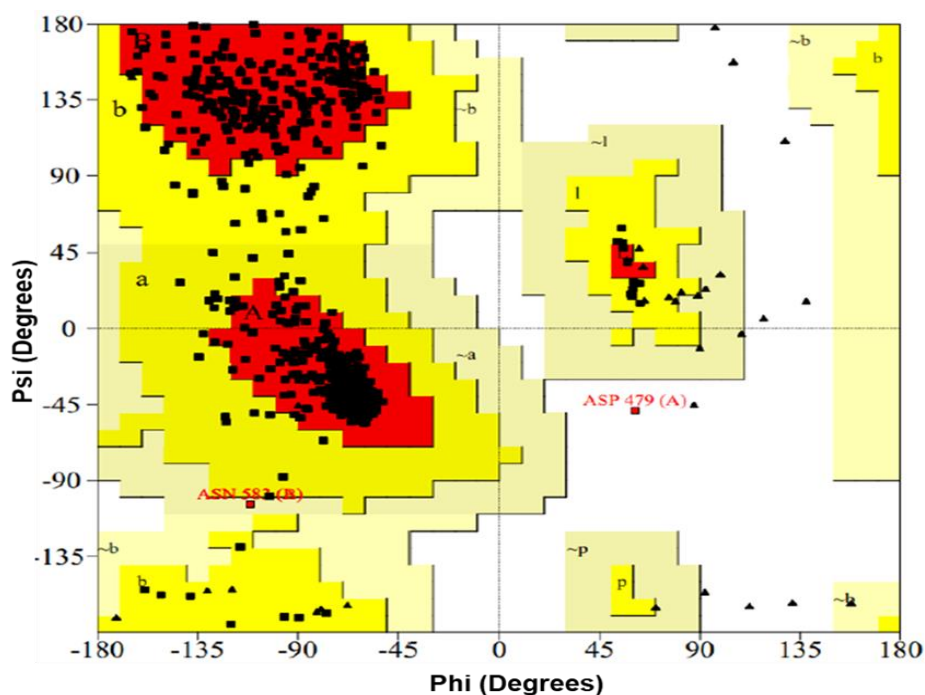
Anexo 4. Gráfico de Ramachandran para enzima da catepsina L co-cristalizada com dipipedil Nitrila (PDB ID: 1GMY) e o mostrando a distribuição dos resíduos nas regiões, favoráveis, permitidas e não permitidas



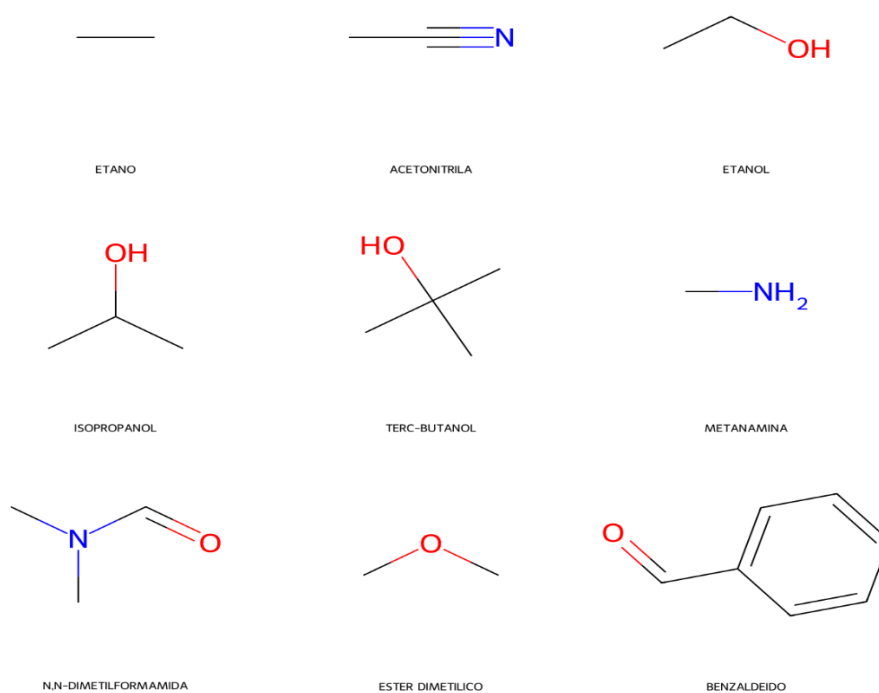
Anexo 5. Gráfico de Ramachandran para o domínio ATPase da Topo IIa humana, ligada ao ANP (PDB ID: 1ZXM) e o mostrando a distribuição dos resíduos nas regiões, favoráveis, permitidas e não permitidas

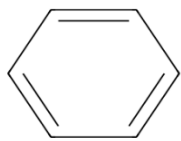


Anexo 6. Gráfico de Ramachandran para enzima Topo II α co-cristalizada com DNA e o etoposídeo (PDB ID: 5GWK), mostrando a distribuição dos resíduos nas regiões, favoráveis, permitidas e não permitidas.

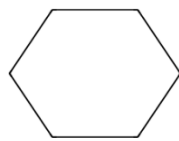


Anexo 7. Estrutura dos 16 solventes orgânicos usados para cálculo de triagem no FTmap E FTsite.

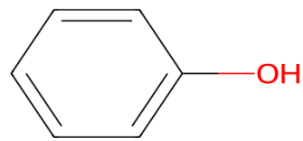




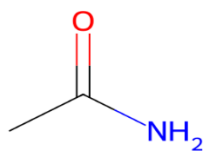
BENZENO



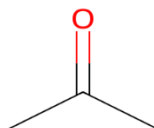
CICLOHEXANO



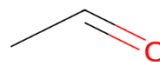
FENOL



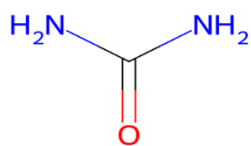
ACETAMIDA



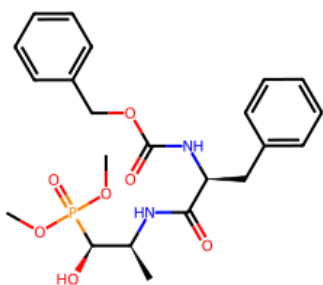
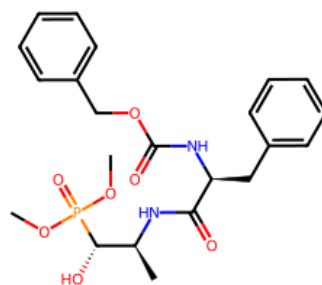
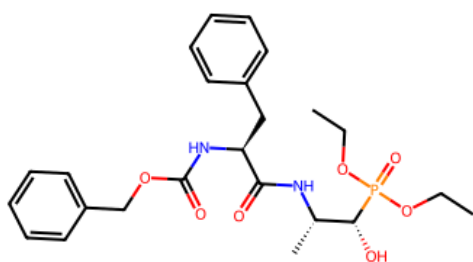
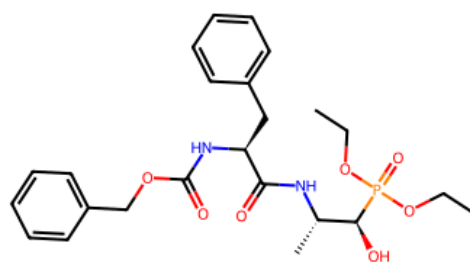
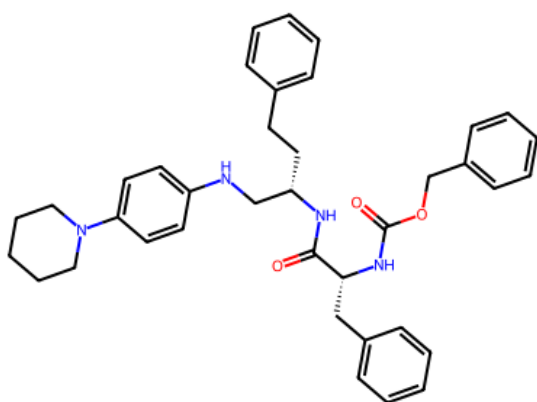
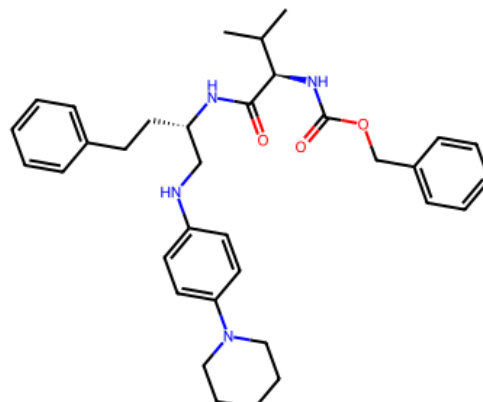
ACETONA

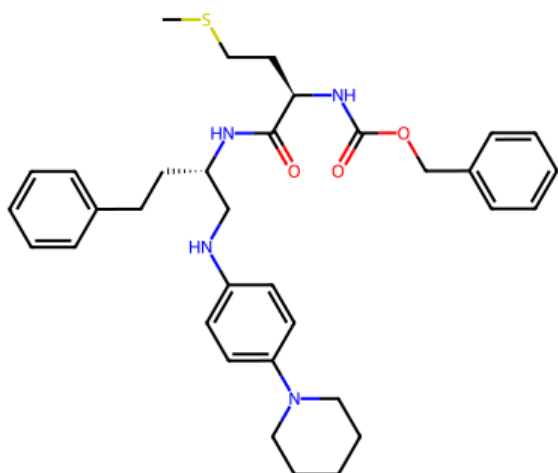
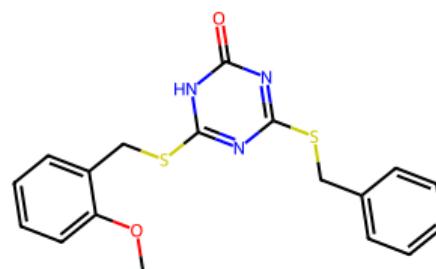
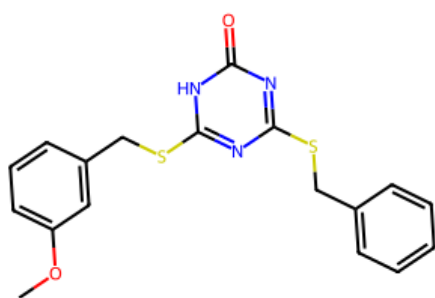
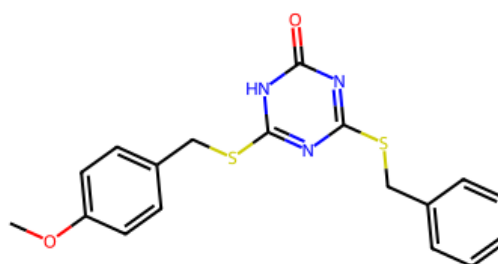
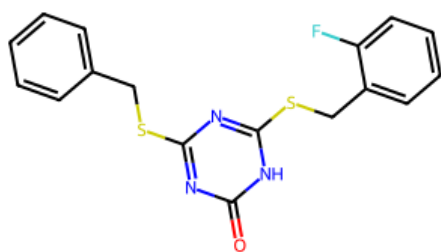
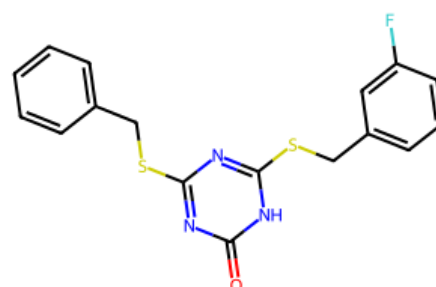


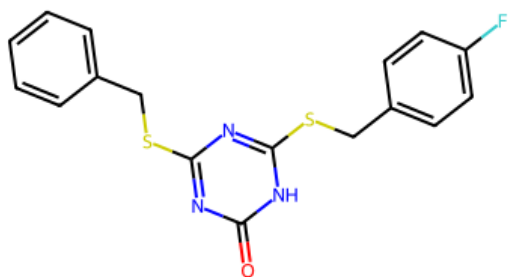
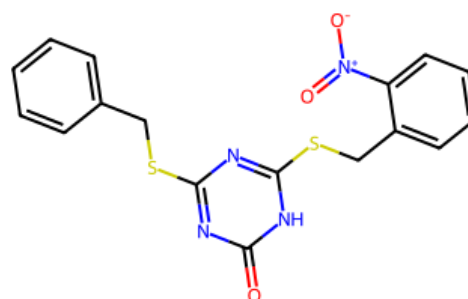
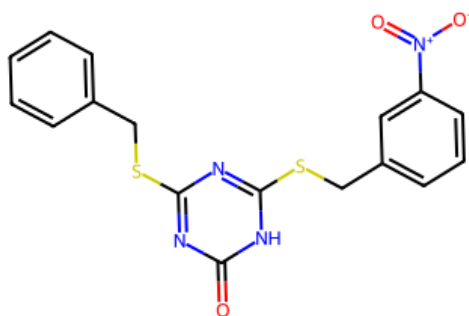
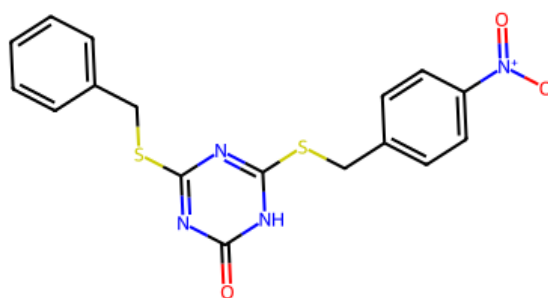
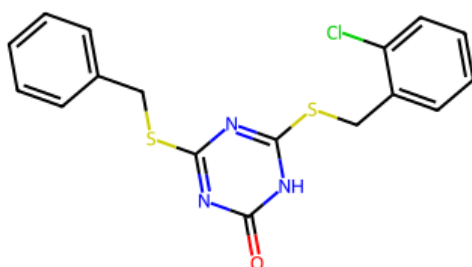
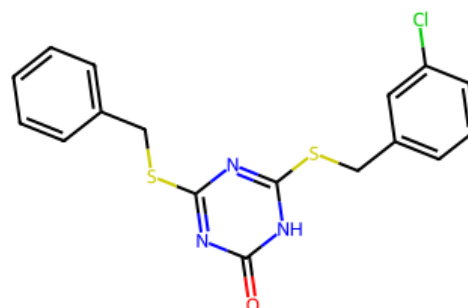
ACETALDEIDO

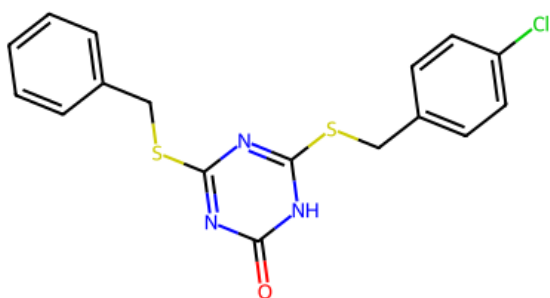
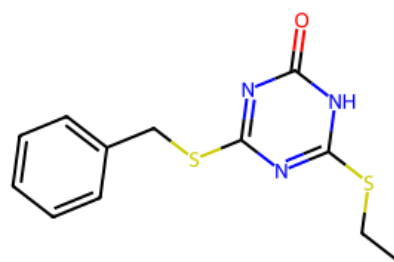
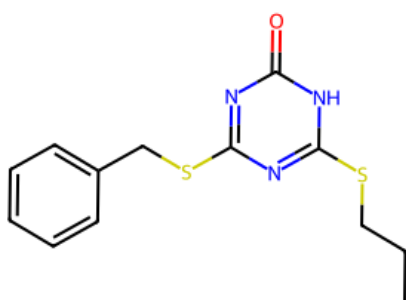
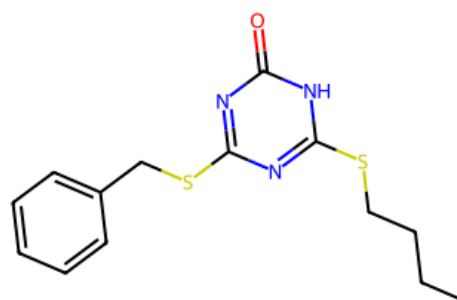
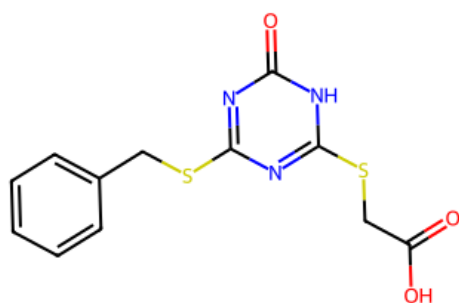
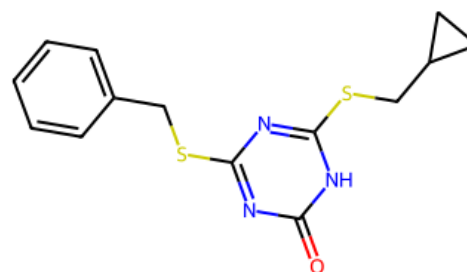


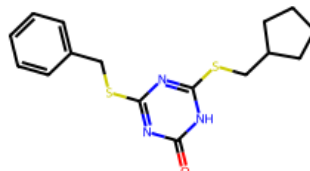
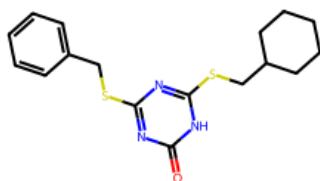
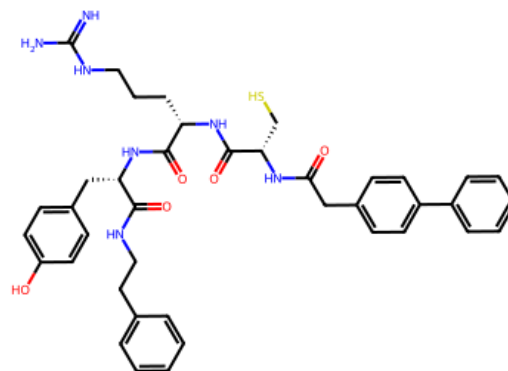
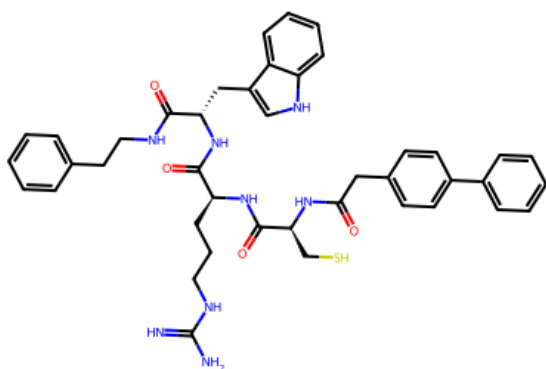
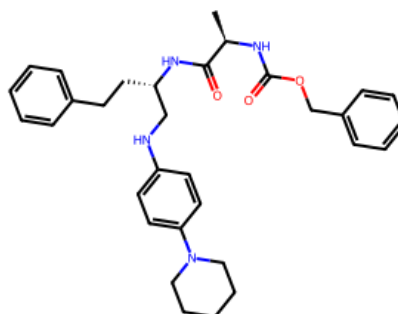
URÉIA

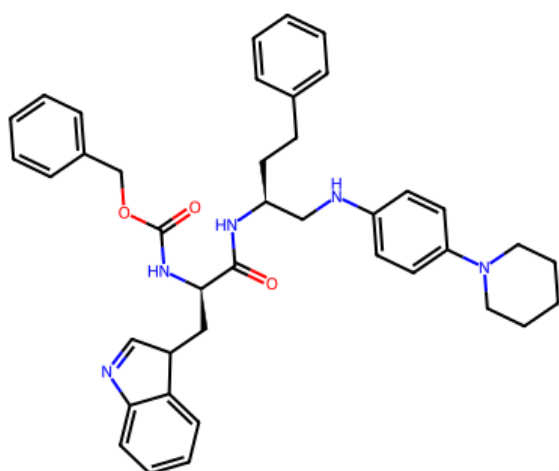
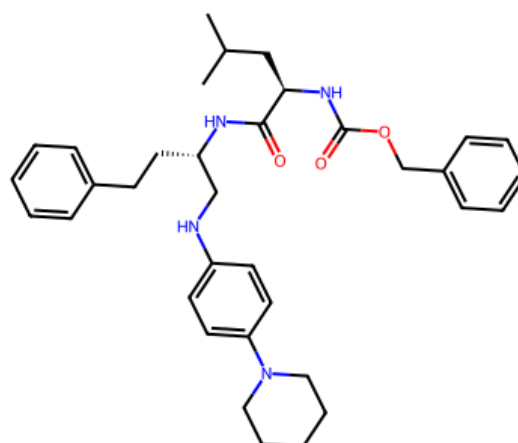
Anexo 8. 32 substâncias da literatura com atividade frente as catepsinas B.catb_7a_a : $K_i = 21$ nMcatb_7a_b : $K_i = 21$ nMcatb_7b_a : $K_i = 60$ nMcatb_7b_b : $K_i = 60$ nMCHEMBL169448 : $K_i = 167$ nMCHEMBL171403 : $K_i = 7$ nM

CHEMBL172456 : $K_i = 12$ nMCHEMBL1836460 : $K_i = 15600$ nMCHEMBL1836461 : $K_i = 13000$ nMCHEMBL1836462 : $K_i = 10300$ nMCHEMBL1836463 : $K_i = 9000$ nMCHEMBL1836464 : $K_i = 7400$ nM

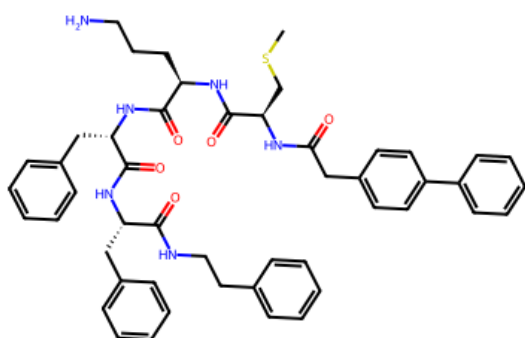
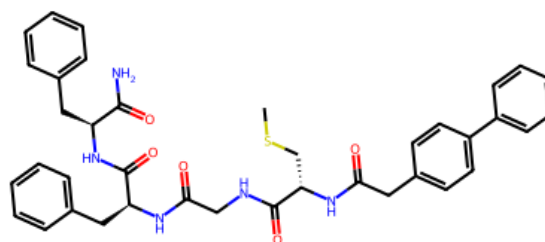
CHEMBL1836465 : $K_i = 13800$ nMCHEMBL1836466 : $K_i = 6000$ nMCHEMBL1836467 : $K_i = 3300$ nMCHEMBL1836468 : $K_i = 4000$ nMCHEMBL1836469 : $K_i = 3600$ nMCHEMBL1836470 : $K_i = 4500$ nM

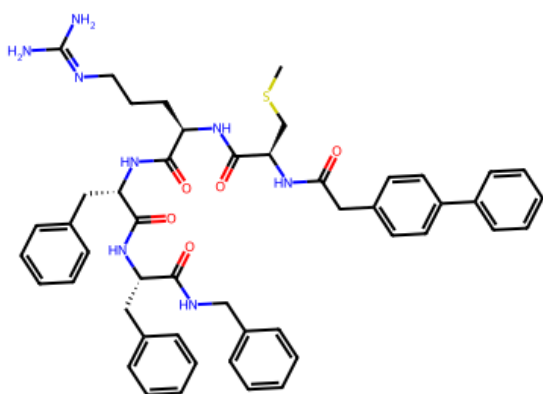
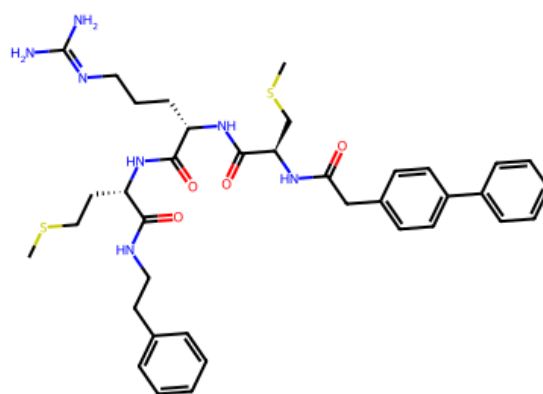
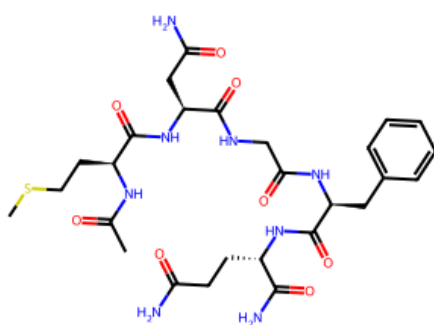
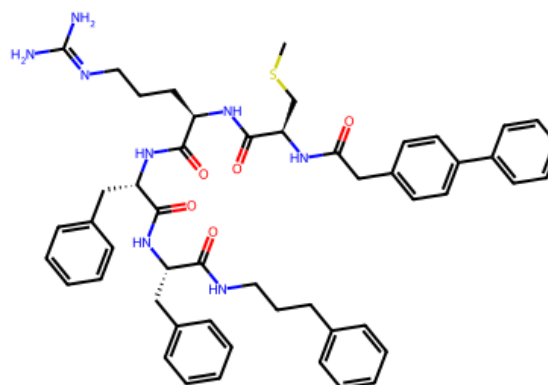
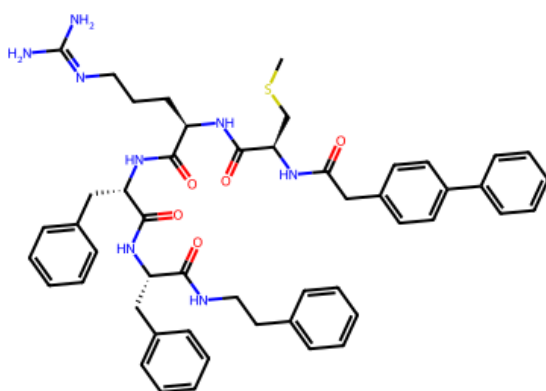
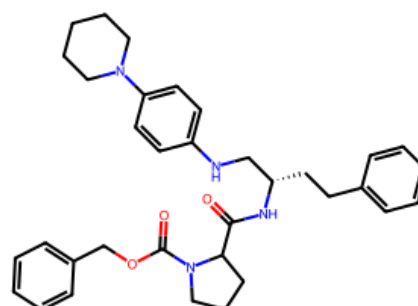
CHEMBL1836506 : $K_i = 2500$ nMCHEMBL1836511 : $K_i = 97100$ nMCHEMBL1836512 : $K_i = 49400$ nMCHEMBL1836513 : $K_i = 14800$ nMCHEMBL1836515 : $K_i = 351000$ nMCHEMBL1836516 : $K_i = 28300$ nM

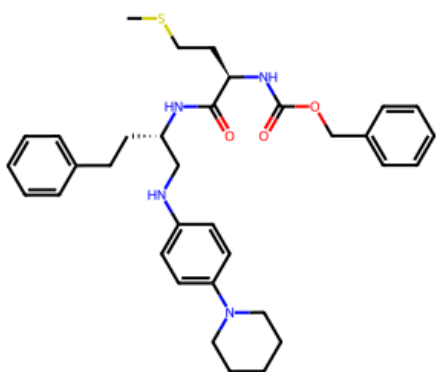
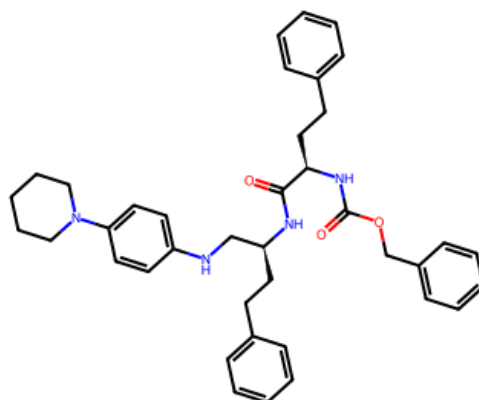
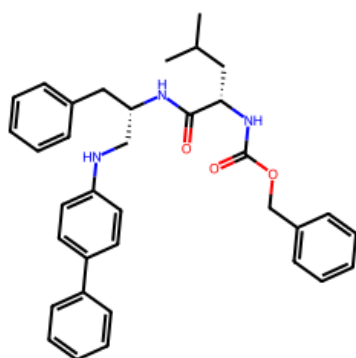
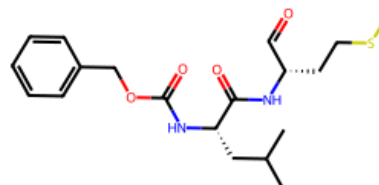
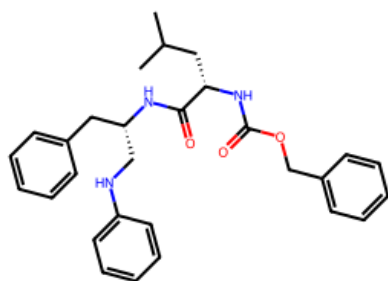
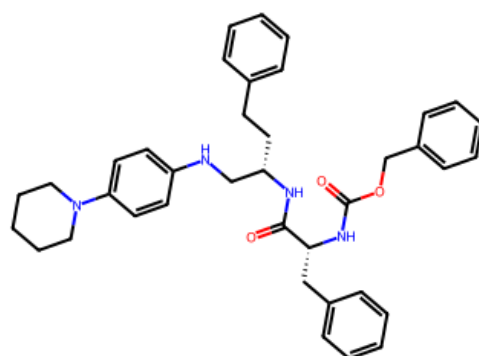
CHEMBL1836517 : $K_i = 10130$ nMCHEMBL1836518 : $K_i = 8950$ nMCHEMBL1836519 : $K_i = 3300$ nMCHEMBL3143399 : $K_i = 15000$ nMCHEMBL3143405 : $K_i = 560$ nMCHEMBL353633 : $K_i = 2094$ nM

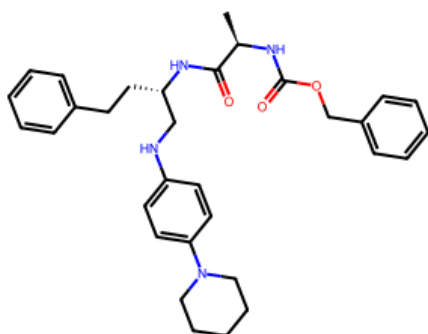
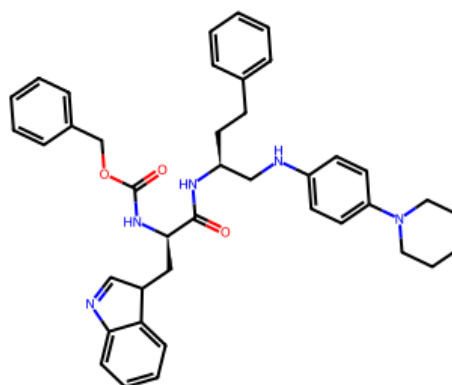
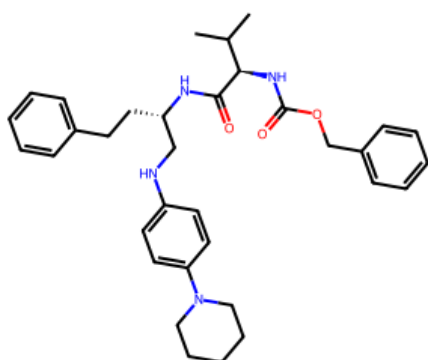
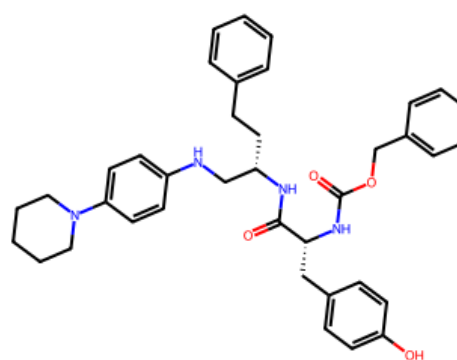
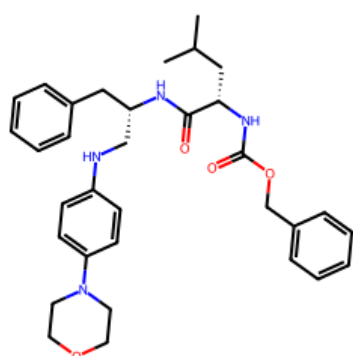
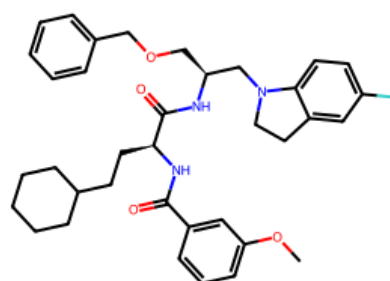
CHEMBL354132 : $K_i = 3362$ nMCHEMBL354439 : $K_i = 658$ nM

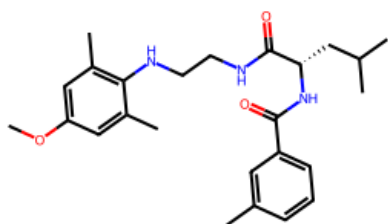
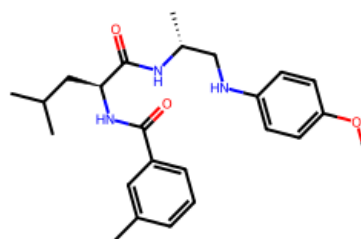
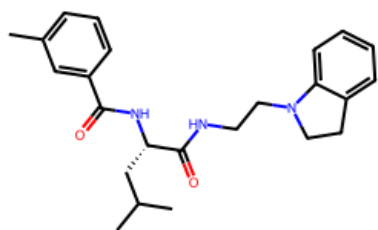
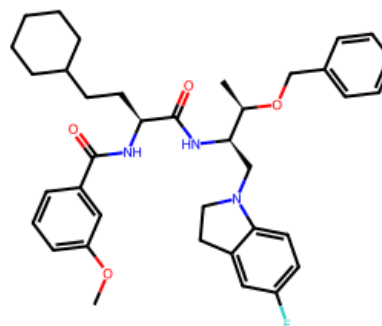
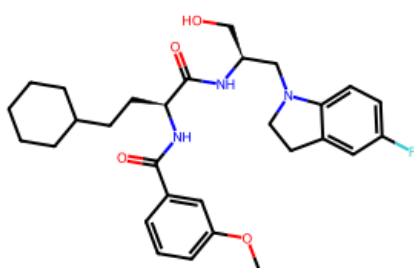
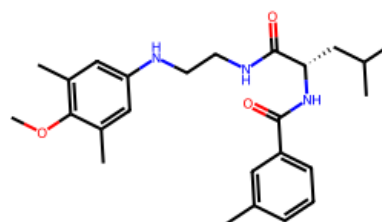
Anexo 9. 68 substâncias da literatura com atividade frente as catepsinas L.

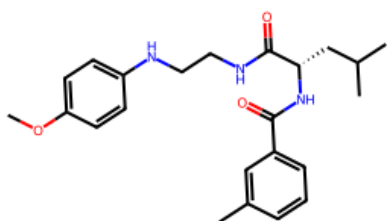
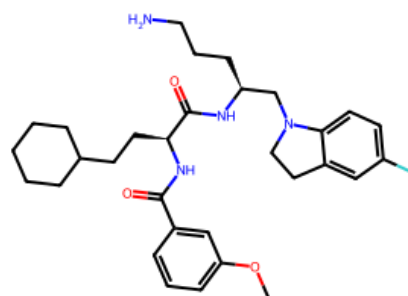
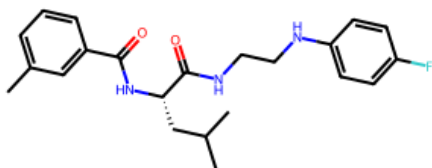
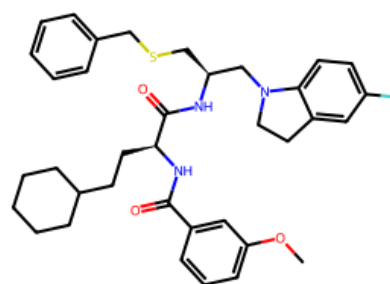
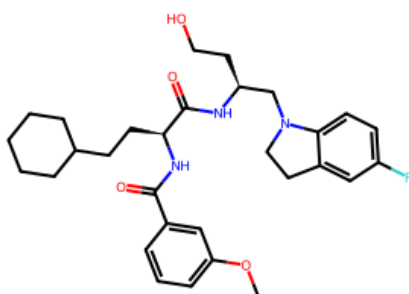
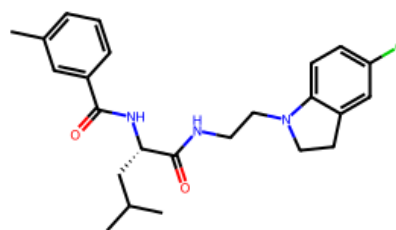
CHEMBL3143395 : $K_i = 210$ nMCHEMBL2371032 : $K_i = 930$ nM

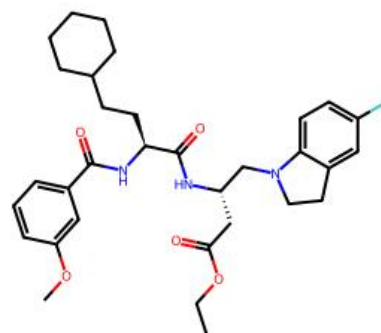
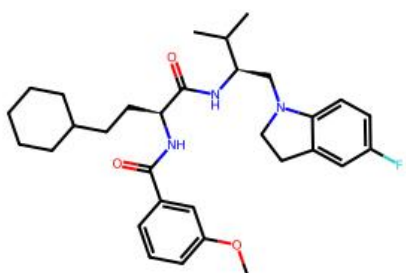
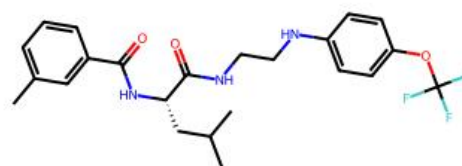
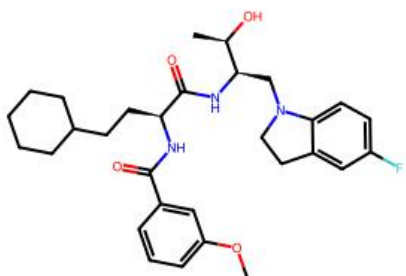
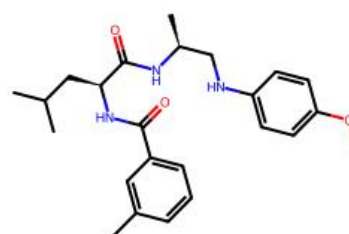
CHEMBL3143407 : $K_i = 6600$ nMCHEMBL3143401 : $K_i = 240$ nMCHEMBL147223 : $K_i = 100000$ nMCHEMBL3143389 : $K_i = 210$ nMCHEMBL3143406 : $K_i = 210$ nMCHEMBL170962 : $K_i = 7844$ nM

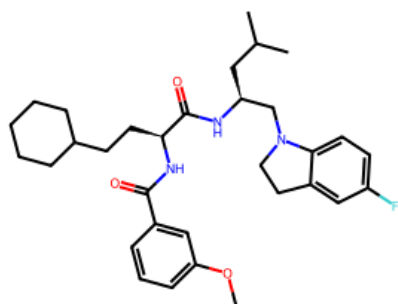
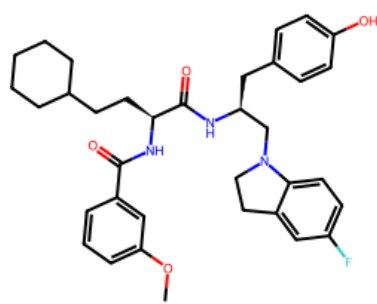
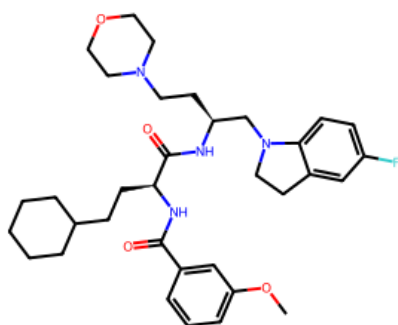
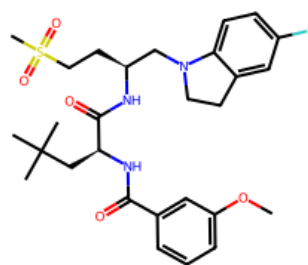
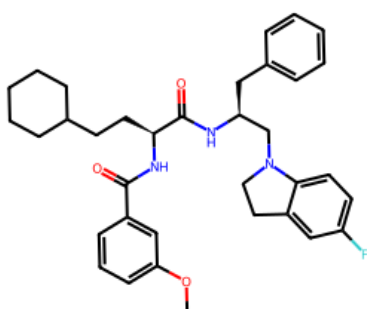
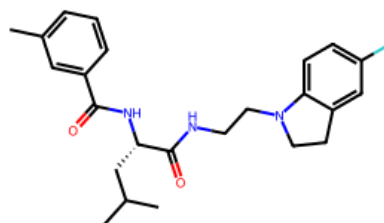
CHEMBL172456 : $K_i = 36$ nMCHEMBL169708 : $K_i = 9$ nMCHEMBL171998 : $K_i = 32$ nMCHEMBL99195 : $K_i = 1.3$ nMCHEMBL423447 : $K_i = 230$ nMCHEMBL169448 : $K_i = 1$ nM

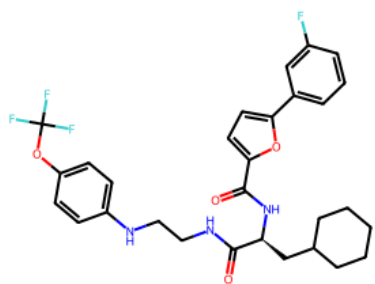
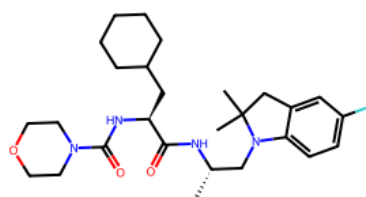
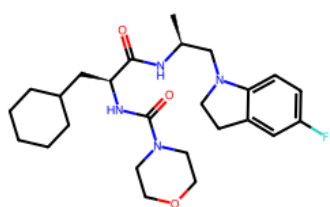
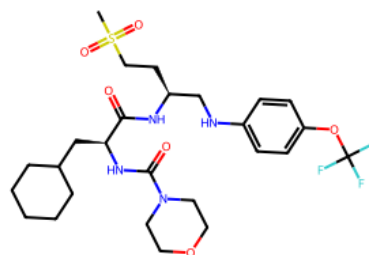
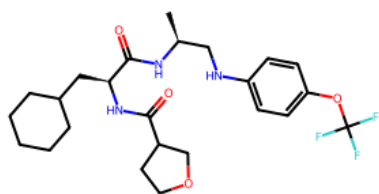
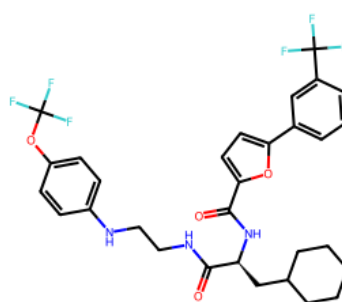
CHEMBL353633 : $K_i = 4110$ nMCHEMBL354132 : $K_i = 1$ nMCHEMBL171403 : $K_i = 1$ nMCHEMBL169560 : $K_i = 1$ nMCHEMBL170242 : $K_i = 2$ nMCHEMBL206653 : $K_i = 380$ nM

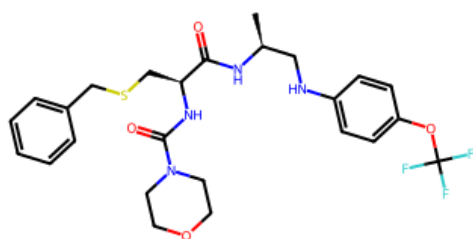
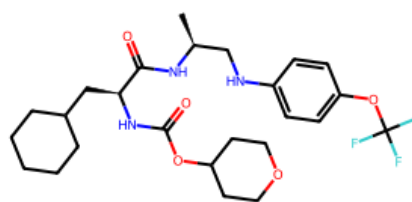
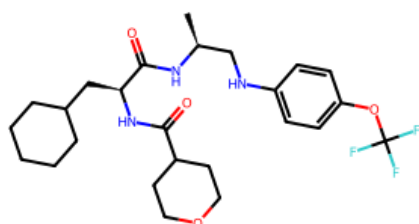
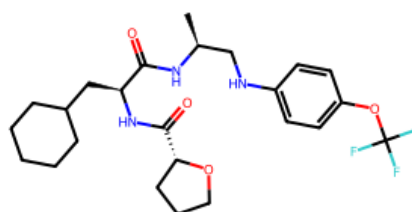
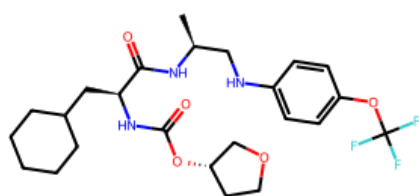
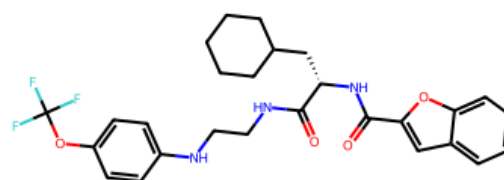
CHEMBL202958 : $K_i = 14$ nMCHEMBL203325 : $K_i = 75$ nMCHEMBL205835 : $K_i = 88$ nMCHEMBL206057 : $K_i = 20$ nMCHEMBL204125 : $K_i = 15530$ nMCHEMBL379253 : $K_i = 20$ nM

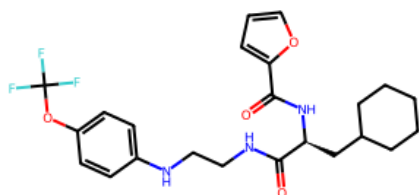
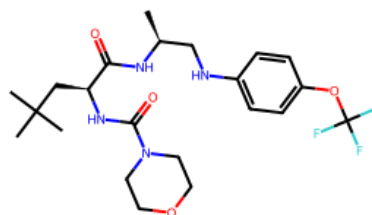
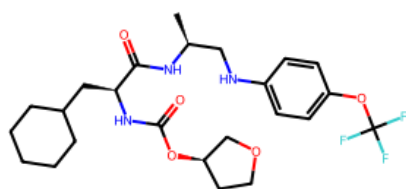
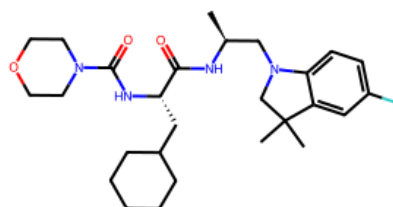
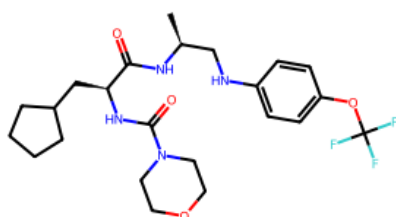
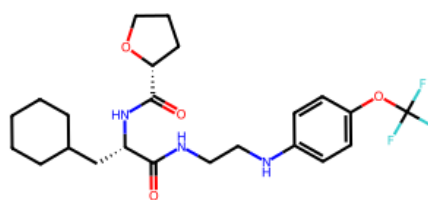
CHEMBL64765 : $K_i = 7.58$ nMCHEMBL383549 : $K_i = 42$ nMCHEMBL205196 : $K_i = 62$ nMCHEMBL383648 : $K_i = 5040$ nMCHEMBL380712 : $K_i = 1800$ nMCHEMBL379230 : $K_i = 17$ nM

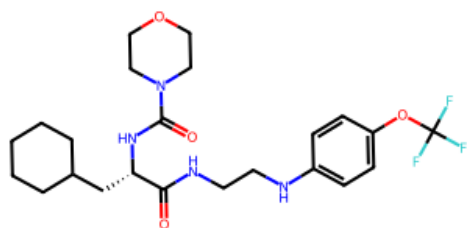
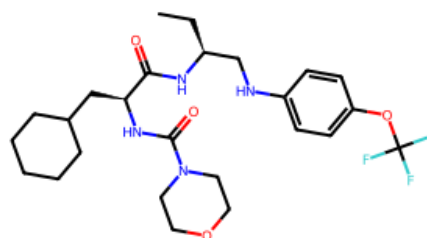
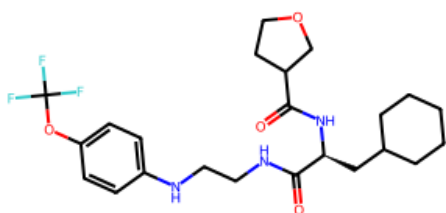
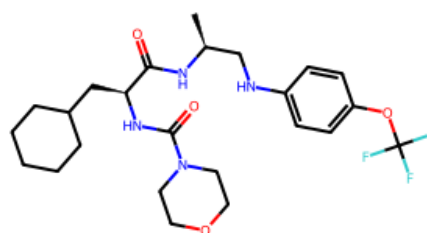
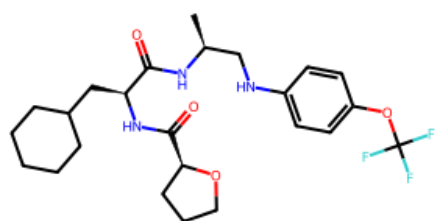
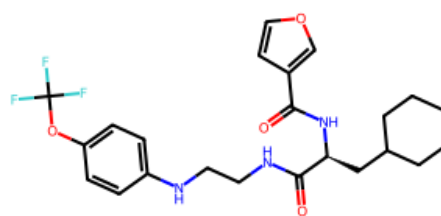
CHEMBL379901 : $K_i = 92$ nMCHEMBL383469 : $K_i = 1754$ nMCHEMBL382245 : $K_i = 150$ nMCHEMBL206050 : $K_i = 120$ nMCHEMBL205566 : $K_i = 20$ nMCHEMBL203328 : $K_i = 1.6$ nM

CHEMBL206512 : $K_i = 1800$ nMCHEMBL381388 : $K_i = 3410$ nMCHEMBL203052 : $K_i = 5$ nMCHEMBL202747 : $K_i = 19$ nMCHEMBL206239 : $K_i = 9200$ nMCHEMBL203480 : $K_i = 11$ nM

CHEMBL214905 : $K_i = 4080$ nMCHEMBL386664 : $K_i = 1060$ nMCHEMBL213610 : $K_i = 512$ nMCHEMBL379079 : $K_i = 4$ nMCHEMBL216514 : $K_i = 4790$ nMCHEMBL385912 : $K_i = 4970$ nM

CHEMBL215218 : $K_i = 1180$ nMCHEMBL212176 : $K_i = 75$ nMCHEMBL212892 : $K_i = 232$ nMCHEMBL214654 : $K_i = 582$ nMCHEMBL425636 : $K_i = 590$ nMCHEMBL386383 : $K_i = 45$ nM

CHEMBL217496 : $K_i = 1150$ nMCHEMBL215599 : $K_i = 14600$ nMCHEMBL212287 : $K_i = 2570$ nMCHEMBL384856 : $K_i = 810$ nMCHEMBL385534 : $K_i = 2590$ nMCHEMBL215403 : $K_i = 3120$ nM

CHEMBL215378 : $K_i = 2110$ nMCHEMBL212703 : $K_i = 6$ nMCHEMBL386293 : $K_i = 7940$ nMCHEMBL215869 : $K_i = 125$ nMCHEMBL214897 : $K_i = 331$ nMCHEMBL215402 : $K_i = 914$ nM

Anexo 10. Tabela de símbolos de 1 letra de aminoácidos.

Aminoácido	Abreviatura de 3 letras	Símbolo
Alanina	Ala	A
Cisteína	Cys	C
Ácido aspártico	Asp	D
Ácido glutâmico	Glu	E
Fenilalanina	Phe	F
Glicina	Gly	G
Histidina	His	H
Isoleucina	Ile	I
Lisina	Lys	K
Leucina	Leu	L
Metionina	Met	M
Asparagina	Asn	N
Prolina	Pro	P
Glutamina	Gln	Q
Arginina	Arg	R
Serina	Ser	S
Treonina	Thr	T
Valina	Val	V
Triptofano	Trp	W
Tirosina.	Tyr	Y