

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE  
PORTO ALEGRE – UFCSPA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIAS**

**Bruna Schuck de Azevedo**

**Identificação de potenciais alvos  
moleculares relacionados a câncer para as  
moléculas da família formicamicina**

**UFCSPA**

Universidade Federal de Ciências da Saúde  
de Porto Alegre

**Porto Alegre  
2020**

**Bruna Schuck de Azevedo**

**Identificação de potenciais alvos  
moleculares relacionados a câncer para as  
moléculas da família formicamicina**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Biociências da Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre como requisito para a obtenção do grau de Mestre

Orientador: Dr. Rafael Andrade Caceres

**Porto Alegre  
2020**

Schuck de Azevedo, Bruna

Identificação de potenciais alvos moleculares relacionados a câncer para as moléculas da família formicamicina / Bruna Schuck de Azevedo. -- 2020.

77 p. : il., tab. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) -- Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Programa de Pós-Graduação em Biociências, 2020.

Orientador: Rafael Andrade Caceres.

1. Triagem virtual reversa. 2. Formicamicina.  
3. Câncer. 4. Biofísica molecular computacional.  
5. Bioinformática. I. Título.



Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre – UFCSPA  
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação  
Programa de Pós-Graduação em Biociências

### **DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

Data: 29/07/2020

Título: Identificação de potenciais alvos moleculares relacionados a câncer para as moléculas da família formicamicina

Discente: Bruna Schuck de Azevedo

Orientador: Dr. Rafael Andrade Caceres

Banca Examinadora:

Dr. Rodrigo Ligabue-Braun (UFCSPA)

Dr. Fernando Berton Zanchi (Fiocruz)

Dr. Luís Fernando Saraiva Macedo Timmers (UNIVATES)

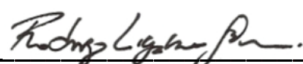
Dra. Claudia Elizabeth Thompson (UFCSPA – suplente)

Em sessão pública, a discente apresentou seu trabalho e, de acordo com os pareceres dos membros da banca, foi:

(X) APROVADA, devendo o discente entregar a versão final no prazo máximo de 30 dias.

( ) REPROVADA.

Porto Alegre, 29 de julho de 2020.

  
Dr. Rodrigo Ligabue-Braun

  
Dr. Fernando Berton Zanchi

  
Dr. Luís Fernando Saraiva Macedo Timmers

  
Dr. Rafael Andrade Caceres

  
Bruna Schuck de Azevedo

## **INSTITUIÇÕES E FONTES FINANCIADORAS**

Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA)

Programa de Pós-Graduação em Biociências (PPGBio) – UFCSPA

Curso de Farmácia – UFCSPA

Laboratório de Bioinformática Estrutural – UFCSPA

Central Analítica – UFCSPA

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)

*“Beginnings are usually scary, and endings are usually sad,  
but it's everything in between that makes it all worth living.”*

Bob Marley

## LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E UNIDADES

### Abreviaturas

|                              |                                                            |
|------------------------------|------------------------------------------------------------|
| <b><math>\Delta G</math></b> | variação da energia livre de Gibbs                         |
| <b>2D</b>                    | bidimensional                                              |
| <b>3D</b>                    | tridimensional                                             |
| <b>3WF</b>                   | etinilestradiol                                            |
| <b>ADME-Tox</b>              | absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade |
| <b>ASR</b>                   | taxa padronizada por idade                                 |
| <b>ATB</b>                   | <i>Automated Topology Builder</i>                          |
| <b>Bexiga</b>                | câncer de bexiga                                           |
| <b>BGC</b>                   | grupos de genes biossintéticos                             |
| <b>BGC30</b>                 | grupo de genes PKS tipo 2; for                             |
| <b><i>bitstring</i></b>      | conjunto contíguo de dígitos binários                      |
| <b>C &amp; P</b>             | câncer de cabeça e pescoço                                 |
| <b>CAC</b>                   | carcinoma adrenocortical                                   |
| <b>C<math>\beta</math></b>   | carbono $\beta$                                            |
| <b>cCCR</b>                  | carcinoma de células renais tipo células claras            |
| <b>Cervical</b>              | câncer cervical                                            |
| <b>chCCR</b>                 | carcinoma de células renais tipo cromóforo                 |
| <b>cMT</b>                   | C-metiltransferase                                         |
| <b>Colorretal</b>            | câncer colorretal                                          |
| <b>CYP3A4</b>                | citocromo P450 3A4                                         |
| <b>DEX</b>                   | dexametasona                                               |
| <b>DNA</b>                   | Ácido desoxirribonucleico                                  |
| <b>DOPE</b>                  | <i>Discrete Optimized Protein Energy</i>                   |
| <b>E.C.</b>                  | <i>Enzyme Commission number</i>                            |
| <b>ECM</b>                   | matriz extracelular                                        |
| <b>EFEB</b>                  | energia livre de ligação estimada                          |
| <b>Esôfago</b>               | câncer de esôfago                                          |
| <b>Estômago</b>              | câncer de estômago                                         |
| <b>F2</b>                    | fator de coagulação II; protrombina                        |

|                        |                                                               |
|------------------------|---------------------------------------------------------------|
| <b>F7</b>              | fator de coagulação VII                                       |
| <b>F9</b>              | fator de coagulação IX                                        |
| <b>F10</b>             | fator de coagulação X                                         |
| <b>FASTA</b>           | <i>FAST-All format</i>                                        |
| <b>Fígado</b>          | câncer hepático                                               |
| <b>GDP</b>             | guanosina difosfato                                           |
| <b>GROMACS</b>         | <i>GROningen Machine for Chemical Simulations</i>             |
| <b>GTP</b>             | guanosina trifosfato                                          |
| <b>HSP90A</b>          | proteína de choque térmico 90 $\alpha$                        |
| <b>IC<sub>50</sub></b> | concentração inibitória média                                 |
| <b>IGF1R</b>           | receptor de fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 |
| <b>IMC</b>             | Índice de Massa Corporal                                      |
| <b>INCA</b>            | Instituto Nacional de Câncer                                  |
| <b>itp</b>             | <i>GROMACS portable topology file</i>                         |
| <b>K<sub>i</sub></b>   | constante de inibição                                         |
| <b>LDGCB</b>           | linfoma difuso de grandes células B                           |
| <b>Mama Inv</b>        | câncer de mama invasivo                                       |
| <b>MDR1</b>            | proteína de resistência a múltiplas drogas 1; glicoproteína-P |
| <b>MIC</b>             | concentração inibitória mínima                                |
| <b>MM–PBSA</b>         | <i>Molecular Mechanics Poisson–Boltzmann Surface Area</i>     |
| <b>MMP3</b>            | metaloproteinase de matriz 3                                  |
| <b>MMP8</b>            | metaloproteinase de matriz 8                                  |
| <b>MMP12</b>           | metaloproteinase de matriz 12                                 |
| <b>MMP13</b>           | metaloproteinase de matriz 13                                 |
| <b>mol</b>             | <i>MDL Mol file</i>                                           |
| <b>mol2</b>            | <i>Tripos Mol2 file</i>                                       |
| <b>MRSA</b>            | <i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina          |
| <b>Nº</b>              | número                                                        |
| <b>NaCl</b>            | cloreto de sódio                                              |
| <b>NR1I2</b>           | receptor nuclear subfamília 1, grupo I membro 2               |
| <b>NR3C1</b>           | receptor de glicocorticoides                                  |
| <b>oMT</b>             | O-metiltransferase                                            |

|                           |                                                                          |
|---------------------------|--------------------------------------------------------------------------|
| <b>Ovário</b>             | câncer ovariano                                                          |
| <b>PDB</b>                | <i>Protein Data Bank</i>                                                 |
| <b>pdb</b>                | <i>Protein Data Bank format</i>                                          |
| <b>pdbqt</b>              | <i>Protein Data Bank, Partial Charge (Q), &amp; Atom Type (T) format</i> |
| <b>PDE5A</b>              | cGMP-específico da fosfodiesterase tipo 5                                |
| <b>PGR</b>                | receptor de progesterona                                                 |
| <b>PTPN1</b>              | proteína tirosina fosfatase não receptora tipo 1                         |
| <b>Pulmão AC</b>          | adenocarcinoma pulmonar                                                  |
| <b>Pulmão CE</b>          | câncer pulmonar de células escamosas                                     |
| <b>PXR</b>                | receptor pregnano X                                                      |
| <b>Ras</b>                | <i>RAt Sarcoma virus</i>                                                 |
| <b>RMSD</b>               | desvio médio quadrático                                                  |
| <b>RNA</b>                | Ácido ribonucleico                                                       |
| <b>RVS</b>                | triagem virtual reversa                                                  |
| <b><i>S. formicae</i></b> | <i>Streptomyces formicae</i>                                             |
| <b>sdf</b>                | <i>structure data file</i>                                               |
| <b>SMILES</b>             | <i>simplified molecular-input line-entry system</i>                      |
| <b>SPC</b>                | simples ponto-carga                                                      |
| <b>STR</b>                | progesterona                                                             |
| <b>UniProt</b>            | <i>Universal Protein Resource</i>                                        |
| <b>UniProtKB</b>          | UniProt Knowledgebase                                                    |
| <b>Útero</b>              | câncer uterino                                                           |
| <b>Útero CS</b>           | carcinossarcoma uterino                                                  |
| <b>VRE</b>                | <i>Enterococcus</i> resistente à vancomicina                             |
| <b>WHO</b>                | Organização Mundial de Saúde                                             |
| <b>X Y Z</b>              | sistema tridimensional de coordenadas                                    |

#### Símbolos

|          |           |            |                   |
|----------|-----------|------------|-------------------|
| #        | cerquilha | <b>ln</b>  | logaritmo natural |
| %        | por cento |            | valor absoluto    |
| <b>α</b> | alfa      | <b>VII</b> | sete              |
| <b>β</b> | beta      | <b>IX</b>  | nove              |
| <b>Δ</b> | delta     | <b>X</b>   | dez               |

#### Unidades

|            |           |           |             |
|------------|-----------|-----------|-------------|
| <b>Å</b>   | angstrom  | <b>mM</b> | milimolar   |
| <b>atm</b> | atmosfera | <b>μM</b> | micromolar  |
| <b>K</b>   | Kelvin    | <b>nM</b> | nanomolar   |
| <b>kJ</b>  | kilojoule | <b>ns</b> | nanosegundo |
| <b>nm</b>  | nanometro | <b>ps</b> | picosegundo |

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                                                                                  |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1</b> - Estrutura molecular das formicamicinas A-M .....                                                                                               | 14 |
| <b>Figura 2</b> - Via biossintética proposta para as formicamicinas .....                                                                                        | 17 |
| <b>Figura 3</b> - As características do câncer .....                                                                                                             | 18 |
| <b>Figura 4</b> - Taxas de incidência estimadas padronizadas por idade para todos os cânceres, ambos sexos e todas idades .....                                  | 21 |
| <b>Figura 5</b> - As diversas interações moleculares que regulam o ciclo celular .....                                                                           | 24 |
| <b>Figura 6</b> - Diagrama de Venn demonstrando os resultados da triagem virtual reversa ..                                                                      | 36 |
| <b>Figura 7</b> - Relação entre os alvos moleculares associados à carcinogênese e tipos de câncer em que sua frequência de alteração genômica é $\geq 3\%$ ..... | 40 |
| <b>Figura 8</b> - Estrutura terciária do receptor nuclear subfamília 1, grupo I membro 2 em complexo com a formicamicina F provinda do Autodock Vina .....       | 49 |
| <b>Figura 9</b> - Estrutura terciária da metaloproteína de matriz 3 em complexo com a formicamicina A provinda do Autodock .....                                 | 50 |
| <b>Figura 10</b> - Estrutura terciária da metaloproteína de matriz 12 em complexo com a formicamicina B provinda do Autodock Vina .....                          | 51 |
| <b>Figura A1</b> - Estruturas moleculares 2D e 3D da formicamicina A .....                                                                                       | 62 |
| <b>Figura A2</b> - Estruturas moleculares 2D e 3D da formicamicina B .....                                                                                       | 62 |
| <b>Figura A3</b> - Estruturas moleculares 2D e 3D da formicamicina C .....                                                                                       | 63 |
| <b>Figura A4</b> - Estruturas moleculares 2D e 3D da formicamicina D .....                                                                                       | 63 |
| <b>Figura A5</b> - Estruturas moleculares 2D e 3D da formicamicina E .....                                                                                       | 63 |
| <b>Figura A6</b> - Estruturas moleculares 2D e 3D da formicamicina F .....                                                                                       | 64 |
| <b>Figura A7</b> - Estruturas moleculares 2D e 3D da formicamicina G .....                                                                                       | 64 |
| <b>Figura A8</b> - Estruturas moleculares 2D e 3D da formicamicina H .....                                                                                       | 64 |
| <b>Figura A9</b> - Estruturas moleculares 2D e 3D da formicamicina I .....                                                                                       | 65 |
| <b>Figura A10</b> - Estruturas moleculares 2D e 3D da formicamicina J .....                                                                                      | 65 |
| <b>Figura A11</b> - Estruturas moleculares 2D e 3D da formicamicina K .....                                                                                      | 65 |
| <b>Figura A12</b> - Estruturas moleculares 2D e 3D da formicamicina L .....                                                                                      | 66 |
| <b>Figura A13</b> - Estruturas moleculares 2D e 3D da formicamicina M .....                                                                                      | 66 |

## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                                                          |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabela 1</b> - Dados da concentração inibitória mínima para as formicamicinas contra <i>Bacillus subtilis</i> e isolados clínicos de MRSA e VRE ..... | 16 |
| <b>Tabela 2</b> - Número estimado de novos casos, mortes e casos prevalentes em 2018 para os dez cânceres mais incidentes no mundo .....                 | 22 |
| <b>Tabela 3</b> - Estimativas para 2018 da incidência de câncer por região do Brasil .....                                                               | 23 |
| <b>Tabela 4</b> - Alvos moleculares obtidos na triagem virtual reversa .....                                                                             | 37 |
| <b>Tabela 5</b> - Relação dos alvos moleculares à carcinogênese .....                                                                                    | 39 |
| <b>Tabela 6</b> - Informação experimental sobre os alvos moleculares .....                                                                               | 42 |
| <b>Tabela 7</b> - Alinhamentos das sequências de aminoácidos realizados no modeller .....                                                                | 43 |
| <b>Tabela 8</b> - Protocolos de docagem estabelecidos para o Autodock .....                                                                              | 45 |
| <b>Tabela 9</b> - Energia livre de ligação estimada (EFEB) dos compostos submetidos à docagem molecular .....                                            | 46 |
| <b>Tabela 10</b> - Variação da energia livre de Gibbs ( $\Delta G$ ) estimada para os compostos a partir das simulações de dinâmica molecular .....      | 48 |
| <b>Tabela A1</b> - Dados dos modelos obtidos na modelagem molecular .....                                                                                | 67 |
| <b>Tabela A2</b> - Qualidade dos melhores modelos obtidos na modelagem molecular .....                                                                   | 68 |

## RESUMO

Segundo o Observatório Global do Câncer, foram estimados 18 milhões de novos casos e 9,5 milhões de óbitos para todos os tipos de câncer em 2018. A Organização Mundial da Saúde prevê que em 2030 haverá um aumento de 70% nos novos casos e 45% nos óbitos. Devido ao aumento da incidência e mortalidade por cânceres, é necessário investir na descoberta e desenvolvimento de novos fármacos antineoplásicos. A nova família de moléculas denominada formicamicina, ativa contra alguns microrganismos resistentes a antibióticos, teve uma enzima tirosina quinase predita como um de seus alvos moleculares. Como esta enzima desempenha um papel na progressão do câncer, a potencial ação antineoplásica das formicamicinas foi estudada. De modo a identificar os potenciais alvos moleculares para uma ação antineoplásica dos compostos da família formicamicina, uma triagem virtual reversa (RVS) foi realizada utilizando dois servidores *web*, PharmMapper e SwissTargetPrediction, para estabelecer os potenciais alvos com que as formicamicinas interagem. Os alvos obtidos concomitantemente em ambos servidores tiveram sua influência na carcinogênese verificada através de uma revisão de literatura no PubMed. A energia de ligação entre alvo e composto foi determinada para os alvos que aparentavam influenciar a carcinogênese por meio de simulações de docagem, com Autodock 4.2 e Autodock Vina, e dinâmica molecular, com o pacote GROMACS v.4.6.7. Quinze potenciais alvos moleculares foram obtidos na intersecção dos dois servidores de RVS utilizados. Na revisão bibliográfica, doze deles foram associados à carcinogênese. Estes doze alvos moleculares foram submetidos a simulações de docagem e dinâmica molecular. Ao final do processo de RVS, foram identificados três potenciais alvos moleculares para as formicamicinas. Entre estas macromoléculas, o receptor nuclear subfamília 1, grupo I membro 2 e a metaloproteinase de matriz 3 são os alvos mais promissores para uma ação antineoplásica destes compostos.

**Palavras-chave:** triagem virtual reversa; formicamicina; câncer; bioinformática.

## ABSTRACT

According to the Global Cancer Observatory, 18 million new cases and 9.5 million deaths were estimated for all types of cancer in 2018. The World Health Organization predicts that in 2030 there will be a 70% increase in new cases and 45% in deaths. Due to the rise of cancer incidence and mortality, it is necessary to invest in the discovery and development of new antineoplastic drugs. The novel family of molecules called formicamycin, active against some antibiotic resistant microorganisms, had a tyrosine kinase enzyme predicted as one of its molecular targets. As this enzyme plays a role in the progression of cancer, the potential antineoplastic action of the formicamycins has been studied. In order to identify the potential molecular targets for an antineoplastic action of the compounds of the formicamycin family, a reverse virtual screening (RVS) was performed using two web servers, PharmMapper and SwissTargetPrediction, to establish the potential targets which interact with them. The targets obtained concomitantly on both servers had their influence on carcinogenesis verified through a literature review in PubMed. The binding energy between target and compound was determined for the targets that seemed to have an influence on carcinogenesis through simulations of molecular docking, with Autodock 4.2 and Autodock Vina, and molecular dynamics, with the GROMACS v.4.6.7 package. Fifteen potential molecular targets were obtained at the intersection of the two RVS servers used. In the literary review, twelve of them were associated with carcinogenesis. These twelve molecular targets were subjected to molecular docking and molecular dynamics simulations. At the end of the RVS process, three potential molecular targets for the formicamycins were identified. Among these macromolecules, nuclear receptor subfamily 1 group I member 2 and matrix metalloproteinase 3 are the most promising targets for an antineoplastic action of these compounds.

**Keywords:** reverse virtual screening; formicamycin; cancer; bioinformatics.

## SUMÁRIO

|                                                                  |    |
|------------------------------------------------------------------|----|
| <b>1. INTRODUÇÃO</b>                                             | 14 |
| 1. 1. Formicamicinas                                             | 14 |
| 1. 2. Câncer                                                     | 18 |
| 1. 2. 1. Características                                         | 18 |
| 1. 2. 2. Epidemiologia                                           | 20 |
| 1. 2. 3. Tratamento                                              | 23 |
| <b>2. OBJETIVOS</b>                                              | 27 |
| 2. 1. Objetivo geral                                             | 27 |
| 2. 2. Objetivos específicos                                      | 27 |
| <b>3. METODOLOGIA</b>                                            | 28 |
| 3. 1. Preparação das estruturas das formicamicinas               | 28 |
| 3. 2. Triagem virtual reversa                                    | 28 |
| 3. 3. Relação à carcinogênese                                    | 30 |
| 3. 4. Modelagem molecular                                        | 32 |
| 3. 5. Docagem molecular                                          | 32 |
| 3. 6. Dinâmica molecular                                         | 34 |
| <b>4. RESULTADOS &amp; DISCUSSÃO</b>                             | 36 |
| 4. 1. Preparação das estruturas das formicamicinas               | 36 |
| 4. 2. Triagem virtual reversa                                    | 36 |
| 4. 3. Relação à carcinogênese                                    | 38 |
| 4. 4. Modelagem molecular                                        | 41 |
| 4. 5. Docagem molecular                                          | 44 |
| 4. 6. Dinâmica molecular                                         | 47 |
| <b>5. CONCLUSÕES</b>                                             | 52 |
| <b>6. PERSPECTIVAS</b>                                           | 53 |
| <b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>                             | 54 |
| <b>8. APÊNDICES</b>                                              | 62 |
| APÊNDICE A – Estruturas 2D e 3D das formicamicinas A-M           | 62 |
| APÊNDICE B – Detalhes sobre os resultados da modelagem molecular | 67 |
| APÊNDICE C – Detalhes sobre os resultados da dinâmica molecular  | 69 |
| <b>9. CURRÍCULO LATTES</b>                                       | 70 |

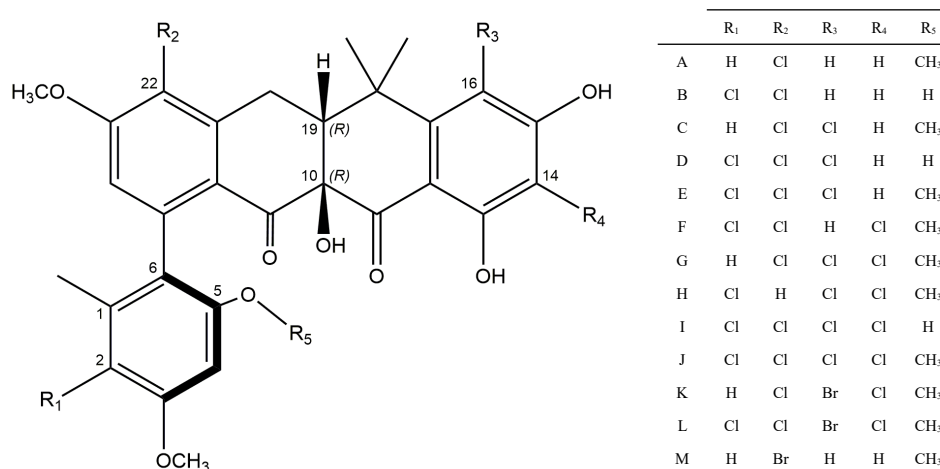
# 1. INTRODUÇÃO

## 1. 1. Formicamicinas

Ao explorar a ecologia química de mutualismos formados entre bactérias e insetos cultivadores de fungos, Qin e colaboradores (2017) isolaram uma nova espécie de *Streptomyces* da formiga africana *Tetraponera penzigi* e da sua domícia na árvore *Acacia drepanolobium*, tendo sido nomeada *S. formicae*. Uma análise comparativa de genomas tendo como referência *S. formicae* foi realizada no antiSMASH 3.0, servidor *web* de livre acesso, para identificar cepas com alto número de grupos de genes biossintéticos (BGC), as quais seriam mais propensas a produzir novos compostos naturais. Destas, a cepa *Streptomyces formicae* denominada KY5 foi identificada, demonstrando também uma atividade antagonística única contra bactérias e fungos resistentes a fármacos, incluindo a bactéria *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) e o fungo *Lomentospora prolificans* multirresistente (QIN *et al.*, 2017).

Através de um bioensaio de fracionamento guiado utilizando a cepa de teste sensível *Bacillus subtilis*, foram isolados e elucidados estruturalmente 10 novos policetídeos pentacíclicos naturais, nomeados pelos autores de formicamicinas (figura 1). Eles também suplementaram o meio de crescimento de *S. formicae* com brometo de sódio, resultando na incorporação de bromo na estrutura e produzindo três congêneros adicionais de formicamicinas. As formicamicinas possuem dois centros quirais em C10 e C19 e podem possuir até quatro átomos de halogênios (QIN *et al.*, 2017).

**Figura 1** - Estrutura molecular das formicamicinas A-M.



Adaptado de Qin *et al.* (2017).

Por meio da análise feita no espectrofotômetro de UV foram evidenciadas as absorções máximas das formicamicinas a 235 e 286 nm e a técnica de espectrometria de massas com ionização por *electrospray* de alta resolução indicou a fórmula molecular das mesmas. Para melhor elucidar a estrutura das formicamicinas também foram utilizados a espectroscopia de ressonância magnética nuclear do hidrogênio 1 e carbono 13 e a espectroscopia de correlação heteronuclear de *quantum* simples e de correlação heteronuclear de múltiplas ligações (QIN *et al.*, 2017).

A atividade das formicamicinas contra as bactérias gram-positivas *B. subtilis*, MRSA e *Enterococcus* resistente à vancomicina (VRE) foi testada permitindo a obtenção da concentração inibitória mínima (MIC) para cada composto (tabela 1) e a análise da sua relação estrutura atividade (QIN *et al.*, 2017). Os pesquisadores observaram que a potência possui uma relação direta com o número de átomos de cloro, pois quando seu número aumentava a potência de inibição também o fazia, e que compostos brominados aparentam ser levemente mais potentes que os clorados. A efetiva inibição de microrganismos resistentes foi demonstrada, além da não aquisição de resistência espontânea por parte do MRSA, sugerindo que as formicamicinas exibem uma maior barreira para a seleção de mutantes resistentes nas condições testadas (QIN *et al.*, 2017).

O grupo de genes PKS tipo 2 (BGC30), designado como *for* pelos autores, foi identificado como codificador da biossíntese das formicamicinas através da análise do genoma do *S. formicae* utilizando antiSMASH 3.0. Deste agrupamento, o gene *forV* codifica uma halogenase dependente de flavina, enzima envolvida na catálise da biossíntese de produtos naturais, que seria responsável pela introdução de até quatro átomos de halogênios na estrutura das formicamicinas (QIN *et al.*, 2017). Os pesquisadores também sugeriram uma via biossintética para as formicamicinas (figura 2) baseando-se em experimentos de alimentação isotópica, bioinformática comparativa e análise mutacional (QIN *et al.*, 2017).

Os alvos moleculares e modo de ação destas moléculas não foram estudados por Qin e colaboradores (2017), permanecendo desconhecidos. O estabelecimento de potenciais alvos moleculares para a ação antimicrobiana dos compostos da família formicamicina foi realizado no trabalho de conclusão de curso em Farmácia (UFCSPA) da autora em 2018. Através de uma triagem virtual reversa que identificou alvos moleculares que interagem com as formicamicinas, seguida de uma revisão de literatura que verificou a

**Tabela 1** - Dados da concentração inibitória mínima (MIC) para as formicamicinas contra *Bacillus subtilis* e isolados clínicos de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) e *Enterococcus* resistente à vancomicina (VRE).

| Formicamicina | MIC (μM)           |             |             |
|---------------|--------------------|-------------|-------------|
|               | <i>B. subtilis</i> | MRSA        | VRE         |
| A             | 5                  | 80          | 80          |
| B             | 5                  | > 80        | > 80        |
| C             | 10                 | 10          | 10          |
| D             | 5                  | 1,25        | 80          |
| E             | 10                 | 20          | 10          |
| F             | 10                 | 20          | 10          |
| G             | 5                  | 20          | 2,5         |
| H             | 5                  | Não testado | Não testado |
| I             | 10                 | Não testado | Não testado |
| J             | < 2,5              | < 2,5       | 1,25        |
| K             | < 20               | 0,625       | 1,25        |
| L             | < 2,5              | 2,5         | 5           |
| M             | < 2,5              | 1,25        | 2,5         |

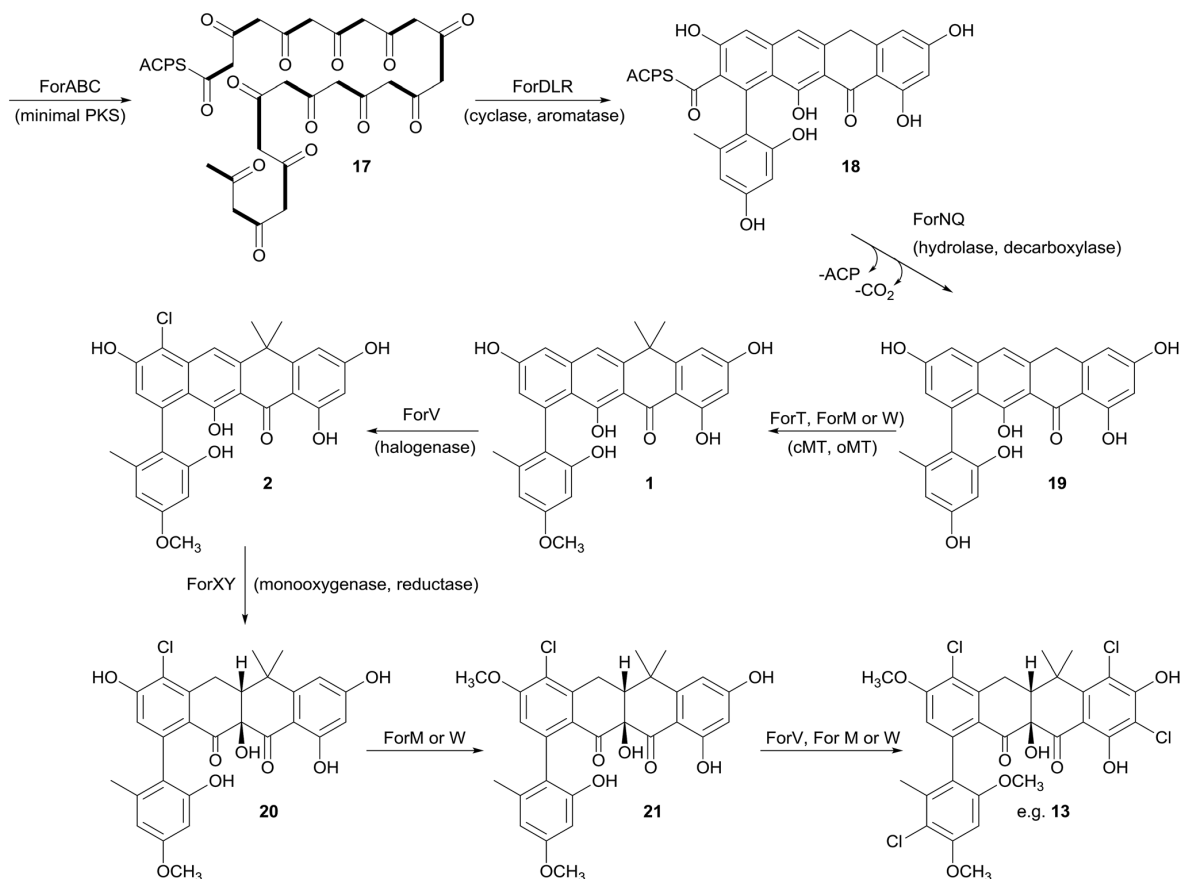
Valores indicando “não testado” ou com “>” ou “<” indicam problemas com disponibilidade de compostos e a decisão de não testar outras concentrações. Adaptado de Qin *et al.* (2017).

essencialidade destes alvos para o ciclo de vida bacteriana e docagens e dinâmicas moleculares que estimaram a energia livre de ligação e variação da energia livre de Gibbs, respectivamente, da interação entre alvo e composto, os pesquisadores evidenciaram três potenciais alvos moleculares: glicerol-3-fosfato desidrogenase [ $\text{NAD}^+$ ],  $\beta$ -lactamase e proto-oncogene tirosina quinase (SCHUCK; CACERES, 2020, em preparação).

A enzima tirosina quinase não é expressa em bactérias, mas foi estudada por possuir um papel na progressão do câncer, doença com alta mortalidade (TORRE *et al.*, 2015; SCHUCK; CACERES, 2020, em preparação). Este proto-oncogene promove vias como a de sobrevivência, angiogênese, proliferação e invasão tumorigênica (ZAN *et al.*, 2014; DEHM; BONHAM, 2004). A ativação desta enzima é observada em aproximadamente metade dos tumores de cólon, fígado, pulmão, mama e pâncreas (DEHM; BONHAM, 2004). Sua presença nos resultados de alvos moleculares para a família formicamicina demonstra o potencial destas moléculas como agentes quimioterápicos e clama por maiores estudos sobre esta possível nova indicação terapêutica. De modo a expandir o estudo sobre

as formicamicinas, esta dissertação de mestrado busca alvos moleculares para uma ação antineoplásica destas moléculas.

**Figura 2 - Via biossintética proposta para as formicamicinas.**



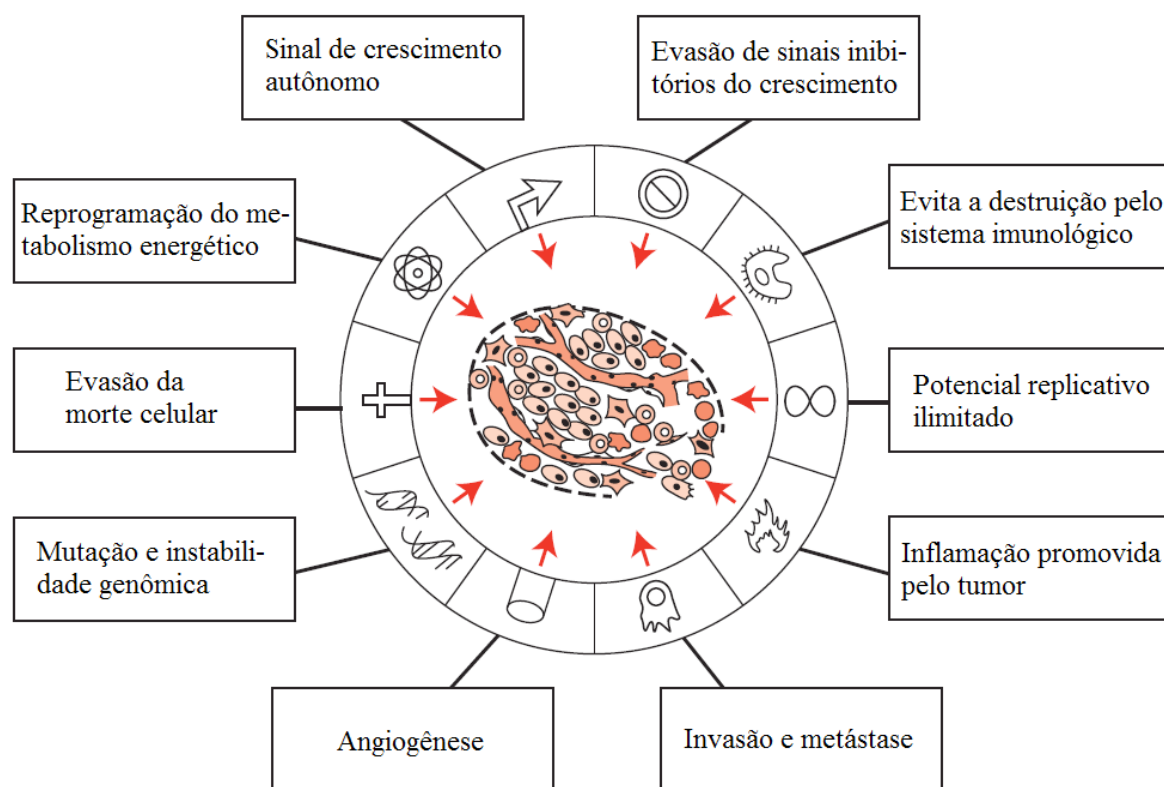
As linhas grossas em 17 indicam as posições de unidades de acetato de sódio [1,2-<sup>13</sup>C<sub>2</sub>] incorporadas no esqueleto policetídeo. cMT, C-metiltransferase; oMT, O-metiltransferase. Extraído de Feng e colaboradores (2012).

## 1. 2. Câncer

### 1. 2. 1. Características

Câncer é um termo genérico para um grande grupo de doenças que podem afetar qualquer parte do corpo. A característica mais expressiva que define tais doenças é o crescimento rápido e desordenado de células modificadas geneticamente que invadem tecidos e órgãos, podendo espalhar-se para outras regiões do corpo (metástase) (ALMEIDA, 2010; PECORINO, 2012; WHO, 2017). Outras características essenciais para a ocorrência da maioria, se não de todos, cânceres incluem (HANAHAN; WEINBERG, 2011) (figura 3):

**Figura 3** - As características do câncer.



Adaptado de Hanahan e Weinberg (2011).

#### ❖ Capacidade de gerar sinais de crescimento independentemente

Células tumorígenas adquirem mutações que impedem o correto funcionamento das vias dos fatores de crescimento, resultando em proliferação celular desregulada independente. Enquanto células normais necessitam de sinais externos desses fatores de crescimento para se dividirem.

- ❖ Evasão dos sinais inibitórios do crescimento

Células cancerosas não respondem a sinais que inibiriam seu crescimento devido a mutações adquiridas ou silenciamento gênico que interferem com as vias inibitórias. Já células normais respondem a esses sinais de modo a manter a homeostase.

- ❖ Capacidade de evitar a destruição pelo sistema imunológico

É um elemento emergente baseado em evidências que suportam a teoria da vigilância imunológica segundo a qual o sistema imunitário seria capaz de reconhecer e eliminar células cancerígenas. As células cancerosas que se perpetuam no organismo podem não estimular ou interferir com a resposta imune, evitando, assim, sua destruição.

- ❖ Potencial replicativo ilimitado

As células normais têm seus telômeros, extremidades cromossômicas, encurtados a cada replicação do DNA e, conseqüentemente, possuem um número finito de duplicações celulares antes de se tornarem senescentes. Em contrapartida, células cancerosas mantêm o comprimento de seus telômeros o que possibilita um potencial replicativo ilimitado.

- ❖ Inflamação promotora de tumores

Quase todos os tumores contêm células imunes inflamatórias. Esta inflamação pode facilitar a aquisição das principais características do câncer, como ao prover fatores de crescimento ou enzimas que promovem a angiogênese ou ao liberar espécies reativas de oxigênio que são mutagênicas.

- ❖ Invasão e metástase

Células cancerígenas podem adquirir a habilidade de migrar para outras partes do corpo após sofrerem alterações genômicas que afetam a atividade e/ou os níveis de enzimas envolvidas na invasão ou moléculas relacionadas à adesão célula-célula e célula-meio extracelular.

- ❖ Angiogênese

Células cancerosas são capazes de induzir a angiogênese, necessária para a sobrevivência e expansão do tumor, por meio da modificação do equilíbrio entre indutores

e inibidores angiogênicos.

❖ **Instabilidade e mutação genômica**

Alterações e instabilidades genômicas, podendo decorrer, respectivamente, de mutações e vias de reparo do DNA defeituosas, normalmente permitem a aquisição de outras características principais do câncer.

❖ **Evasão da morte celular**

Células cancerosas evitam sinais apoptóticos, enquanto células normais são eliminadas pela apoptose.

❖ **Reprogramação do metabolismo energético**

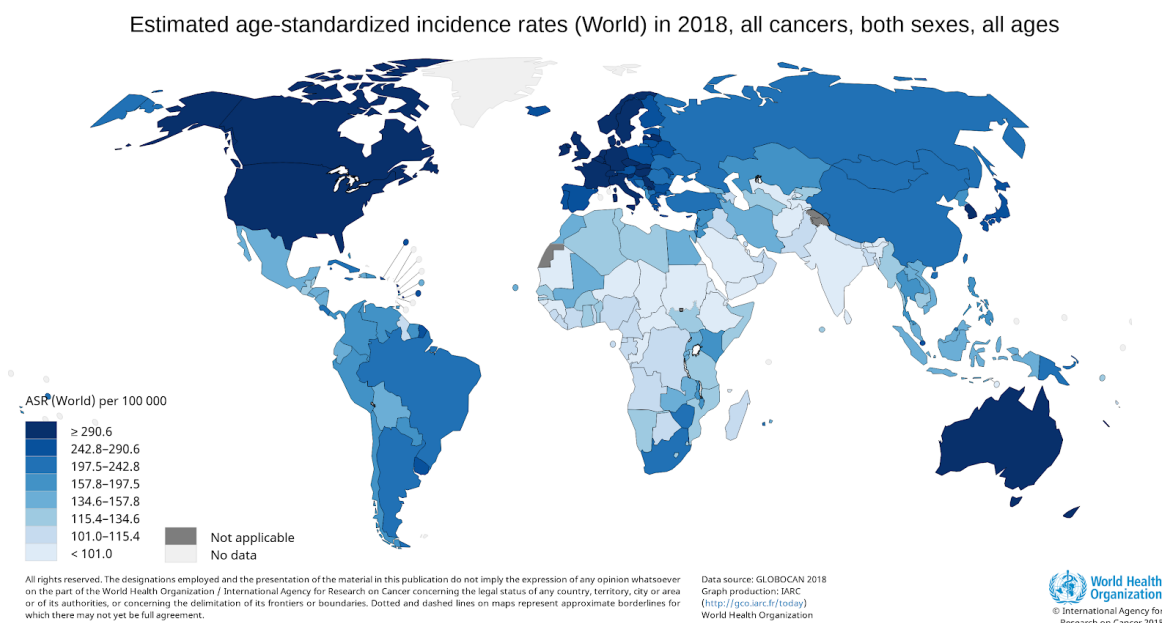
A proliferação celular desenfreada requer uma maior quantidade de precursores energéticos e biossintéticos. As células cancerígenas são capazes de realizar glicólise mesmo na presença de oxigênio e os intermediários desse processo bioquímico podem ser utilizados em outras vias biossintéticas.

### **1. 2. 2. Epidemiologia**

Segundo o Observatório Global do Câncer (2018), estima-se uma incidência de 18 milhões de casos, prevalência de 43,8 milhões de casos e 9,5 milhões de óbitos relacionados a todos os tipos de câncer em 2018. De acordo com a média ponderada das taxas padronizadas por idade (ASR), os cinco países com maior incidência estimada de neoplasias em 2018 são Austrália, Nova Zelândia, Irlanda, Hungria, Estados Unidos da América (figura 4). O Uruguai (31º) é o representante da América Latina com maior incidência estimada e o Brasil figura em 61º lugar (BRAY *et al.*, 2018; FERLAY *et al.*, 2018a; FERLAY *et al.*, 2018b; WHO, 2018).

A Organização Mundial de Saúde estima que 70% dos óbitos globais relacionados ao câncer ocorrem em países de baixa e média renda e que mais de 60% dos novos casos globais anuais ocorrem na África, Ásia e Américas Central e do Sul (WHO, 2017). Ainda em nível global, os cânceres de pulmão e mama são os mais incidentes com aproximadamente 2,1 milhões de novos casos estimados cada (tabela 2) (BRAY *et al.*, 2018; FERLAY *et al.*, 2018a; FERLAY *et al.*, 2018b).

**Figura 4** - Taxas de incidência estimadas padronizadas por idade para todos os cânceres, ambos sexos e todas idades.



Extraído de WHO (2018).

Segundo dados do INCA (2017), o câncer mais incidente no Brasil, excetuando-se cânceres de pele não melanoma, é o de próstata (quarto câncer mais incidente no mundo) que supera o câncer de mama no país por cerca de 10 mil casos. Na região Sul, assim como no resto do Brasil, a localização primária dos cinco cânceres mais incidentes é a seguinte: próstata; mama feminina; cólon e reto; traqueia, brônquio e pulmão e colo do útero. Com a diferença que na região Sul o câncer de traqueia, brônquio e pulmão é o terceiro mais incidente, enquanto na nação como um todo ele ocupa a quarta posição (tabela 3).

O câncer representa uma das maiores causas de morte no globo e esses números tenderão a aumentar com o aperfeiçoamento da detecção e diagnóstico dos casos de cânceres e o envelhecimento da população (HANAHAN; WEINBERG, 2011; WHO, 2017; WHO, 2018). Os dados estatísticos envolvendo incidência e prevalência de doenças são tão válidos quanto os dados em que se baseiam e, quando falamos de câncer, sua detecção e diagnóstico dependem da infraestrutura do sistema de saúde em que o indivíduo está inserido e da expertise da equipe de saúde que lhe acompanha (WHO, 2017). Quando há um déficit nesses aspectos, como é a realidade atual do globo como um todo, temos uma sub-representação do número de casos que realmente existem. Utilizando a mesma

**Tabela 2** - Número estimado de novos casos, mortes e casos prevalentes em 2018 para os dez cânceres mais incidentes no mundo, ambos os sexos e todas as idades.

| Câncer     | Incidência |       | Mortalidade |       | Prevalência         |                        |
|------------|------------|-------|-------------|-------|---------------------|------------------------|
|            | Número     | ASR   | Número      | ASR   | Número <sup>†</sup> | Proporção <sup>‡</sup> |
| Pulmão     | 2.093.876  | 22,5  | 1.761.007   | 18,6  | 2.129.964           | 27,9                   |
| Mama       | 2.088.849  | 46,3  | 626.679     | 13,0  | 6.875.099           | 181,8                  |
| Colorretal | 1.849.518  | 19,7  | 880.792     | 8,9   | 4.789.635           | 62,8                   |
| Próstata   | 1.276.106  | 29,3  | 358.989     | 7,6   | 3.724.658           | 96,7                   |
| Estômago   | 1.033.701  | 11,1  | 782.685     | 8,2   | 1.589.752           | 20,8                   |
| Fígado     | 841.080    | 9,3   | 781.631     | 8,5   | 675.210             | 8,8                    |
| Esôfago    | 572.034    | 6,3   | 508.585     | 5,5   | 547.104             | 7,2                    |
| Cervical   | 569.841    | 13,1  | 311.365     | 6,9   | 1.474.265           | 39,0                   |
| Tireoide   | 567.233    | 6,7   | 41.071      | 0,42  | 1.997.846           | 26,2                   |
| Bexiga     | 549.393    | 5,7   | 199.922     | 1,9   | 1.648.482           | 21,6                   |
| TOTAL      | 18.078.957 | 197,9 | 9555027     | 101,1 | 43.841.302          | 574,4                  |

ASR, taxas padronizadas por idade a cada 100.000 pessoas por ano; <sup>†</sup>Prevalência de 5 anos; <sup>‡</sup>Proporção a cada 100.000 pessoas. Adaptado de Ferlay e colaboradores (2018a).

premissa, com o aperfeiçoamento da detecção e diagnóstico dos casos de cânceres espera-se um maior número de casos.

Além disso, o envelhecimento da população permite que haja mais tempo para o DNA acumular mutações e que os sistemas de reparo de erros em nosso código genético se tornem mais propensos a cometer erros e, consequentemente, negligenciar correções necessárias na sequência de DNA (HANAHAN; WEINBERG, 2011; PECORINO, 2012; WHO, 2018). Este erro, portanto, passa despercebido e é propagado nas células-filhas. A previsão é de que, em 2030, haja um aumento de 70% dos novos casos e 45% dos óbitos (WHO, 2017). Em contrapartida, o desenvolvimento de fármacos direcionados a alvos moleculares próprios das células tumorais é uma tendência que possibilita a redução dos efeitos adversos dos quimioterápicos, focando sua citotoxicidade e/ou ação no tecido canceroso (ACS, 2018; ALMEIDA, 2010; NCI, 2018).

Os fatores de risco dos tumores ainda não são bem estabelecidos devido à multitude de tipos de câncer existentes (atualmente são mais de 100) (ALMEIDA, 2010). Os cinco fatores de risco mais prevalentes, estando associados à ocorrência de um terço de todos os

cânceres, são: alto IMC, baixa ingestão de vegetais e frutas, sedentarismo, tabagismo e consumo de álcool (WHO, 2018). Estes fatores de risco parecem influenciar o funcionamento dos mecanismos de reparo do DNA e ocasionar danos diretos e/ou indiretos ao DNA. Por exemplo, a baixa ingestão de frutas pode causar uma menor disponibilidade de cofatores utilizados nesses mecanismos e no próprio funcionamento da célula como um todo (PECORINO, 2012).

**Tabela 3** - Estimativas para o ano de 2018 da incidência de câncer por região do Brasil.

| Localização primária        | Norte  | Nordeste | Centro-Oeste | Sul     | Sudeste | Brasil  |
|-----------------------------|--------|----------|--------------|---------|---------|---------|
| Próstata                    | 2.700  | 15.820   | 5.330        | 14.290  | 30.080  | 68.220  |
| Mama feminina               | 1.730  | 11.860   | 4.200        | 11.030  | 30.880  | 59.700  |
| Colorretal                  | 1.110  | 5.060    | 2.820        | 6.730   | 20.640  | 36.360  |
| Traqueia, brônquio e pulmão | 1.340  | 5.230    | 2.300        | 8.460   | 13.940  | 31.270  |
| Cervical                    | 2.300  | 6.030    | 1.490        | 2.130   | 4.420   | 16.370  |
| Outras localizações         | 9.510  | 44.710   | 14.440       | 44.770  | 91.660  | 205.090 |
| Subtotal                    | 18.690 | 88.710   | 30.580       | 87.410  | 191.620 | 417.010 |
| Pele não melanoma           | 4.670  | 28.570   | 13.030       | 38.320  | 80.990  | 165.580 |
| Total                       | 23.360 | 117.280  | 43.610       | 125.730 | 272.610 | 582.590 |

Adaptado de INCA (2017).

### 1. 2. 3. Tratamento

Cada câncer será único devido a mutações que suas células carregam, sua etiologia, suas manifestações clínicas, sua frequência, etc, e é atualmente denominado conforme sua localização primária, como por exemplo o câncer de pulmão (ALMEIDA, 2010; WHO, 2018). Essas modificações genéticas geralmente ocorrem em componentes que controlam o ciclo celular, como o p53 e a ciclina D, não sendo corrigidas pelos mecanismos de reparo do DNA e resultando em mitoses irrefreadas (WEINBERG, 1996). Na figura 5, as interações moleculares que regulam o ciclo celular são apresentadas e os componentes celulares cujos genes mutados ou desregulados já foram encontrados em tumores humanos estão destacados com um asterisco.

Dentre os tipos de genes mutados que contribuem para a carcinogênese, dois são predominantes: os oncogenes e os genes supressores de tumor (HANAHAHAN; WEINBERG, 2011; PECORINO, 2012). Enquanto o oncogene decorre da mutação de um proto-



quimioterapia começaram a ser empregadas para inibir ou erradicar as células metastáticas. Os tratamentos oncológicos mais utilizados incluem cirurgia, terapia sistêmica (como a quimioterapia) e radioterapia, sendo que a cirurgia e radioterapia respondem por cerca de 90% dos casos de remissão (49% e 40% respectivamente) (WHO, 2017).

A quimioterapia convencional emprega compostos químicos que têm como alvo o DNA, RNA ou proteína visando interromper o ciclo celular em células tumorais de rápida divisão, possuindo, portanto, baixa especificidade (PECORINO, 2012). A quimioterapia causa um severo dano ao DNA e desencadeia a apoptose celular nessas e outras células de rápida proliferação, como os folículos capilares, epitélio gastrointestinal e células hematopoiéticas (PECORINO, 2012; HANAHAN; WEINBERG, 2011). Os seus efeitos adversos, tais como alopecia, úlceras e anemia, são consequência dessa ação inespecífica dos quimioterápicos.

Apesar de serem capazes de tratar diversos tipos de cânceres e prolongar vidas, os medicamentos quimioterápicos ainda estão longe de serem ideais, sendo necessária a descoberta e desenvolvimento de fármacos com maior eficácia, maior especificidade e efeitos adversos menos severos e debilitantes. Dentre os alvos moleculares com maior influência na carcinogênese temos (PECORINO, 2012):

- ❖ Família da proteína p53

Estas proteínas atuam como fatores transcricionais, coordenando respostas celulares (como interrupção do ciclo celular, reparo de DNA, apoptose, etc) a diferentes tipos de estresse (como dano ao DNA e hipóxia). O gene do p53 é um supressor de tumor, estando mutado em mais da metade de todos os cânceres.

- ❖ Família das proteínas quinases

Estas proteínas fosforilam grupos hidroxila de aminoácidos específicos de proteínas. O aminoácido que é fosforilado normalmente é incluído no nome da proteína, por exemplo, a tirosina quinase fosforila tirosinas. A fosforilação ocasiona uma mudança conformacional e é um dos mecanismos responsáveis por regular a ativação de uma proteína. A progressão do ciclo celular, transdução de sinal e transcrição são algumas das funções celulares em que as quinases desempenham um papel fundamental. As enzimas fosfatases removem grupamentos fosfatos e várias delas são tidas como supressores tumorais em determinados tipos de câncer.

❖ Família Ras

Seus genes contêm mutações em mais da metade dos casos de cânceres como o de cólon. Quando um fator de crescimento se liga ao seu receptor, a proteína transdutora intracelular Ras auxilia na transmissão deste sinal para o restante da célula. Sua ativação depende da troca de GDP por GTP.

❖ Retinoblastoma

Também comumente mutada em diversos tumores, esta proteína usualmente inibe a proliferação celular ao se ligar e, conseqüentemente, inibir as proteínas reguladoras de genes da família E2F, fatores transcricionais essenciais para a progressão do ciclo celular. Sua ativação é regulada através de fosforilação desempenhada por ciclina D e quinases dependentes de ciclina.

## **2. OBJETIVOS**

### **2. 1. Objetivo geral**

▸ Identificar os potenciais alvos moleculares para uma ação antineoplásica dos compostos da família formicamicina.

### **2. 2. Objetivos específicos**

▸ Estabelecer os potenciais alvos moleculares com que as formicamicinas interagem através de uma triagem virtual reversa;

▸ Verificar a influência destes alvos na carcinogênese por meio de revisão de literatura;

▸ Determinar a energia de ligação entre alvos relacionados à carcinogênese e compostos através de simulações de docagem e dinâmica molecular.

### 3. METODOLOGIA

#### 3. 1. Preparação das estruturas das formicamicinas

As estruturas foram obtidas do banco de dados ChemSpider como arquivos mol e SMILES (RSC, 2020). A composição química e estrutura tridimensional (3D) de cada formicamicina em todos os arquivos foi checada no *software* PyMOL v. 2.0.7 (SCHRÖDINGER, 2020). O *software* Open Babel versão 2.4.1 foi utilizado para converter os arquivos mol em mol2 (OBOYLE *et al.*, 2011), um pré-requisito para a submissão de compostos no PharmMapper para conduzir a triagem virtual reversa.

#### 3. 2. Triagem virtual reversa

A triagem virtual objetiva a procura e/ou seleção de compostos capazes de modular a atividade de uma proteína alvo, também denominada alvo molecular, ocasionando a redução de enormes bibliotecas virtuais de pequenas moléculas orgânicas para um número gerenciável de compostos que apresentem maior chance de obter um candidato a fármaco (MUEGGE; ISTVAN, 2003). Enquanto a triagem virtual parte de alvos moleculares para a busca de ligantes, a triagem virtual reversa (também conhecida como *target fishing* em inglês) utiliza moléculas conhecidas para a busca destes alvos. Certas características dessas moléculas, como seus farmacóforos (parte da molécula responsável pela resposta biológica) ou estrutura molecular, são utilizadas para encontrar alvos moleculares com características eletrônicas correspondentes baseando-se na premissa de que compostos similares possam ter propriedades moleculares parecidas (BENDER; GLEN, 2004; JOHNSON; MAGGIORA, 1990; KUBINYI, 1998; MUEGGE; ISTVAN, 2003; WILLETT; BARNARD; DOWNS, 1998). Foram utilizados dois servidores *web* de livre acesso para essa triagem: PharmMapper e SwissTargetPrediction.

Ambos os métodos possibilitam a descoberta de possíveis alvos moleculares, assim como possíveis efeitos adversos e polifarmacologias das moléculas. Estes servidores *web* se complementam, pois enquanto o PharmMapper utiliza farmacóforos, o SwissTargetPrediction emprega características bi e tridimensional (2D e 3D) do composto de interesse para predizer seu(s) alvo(s) molecular(es). Sua aplicação em conjunto também permite a verificação da concordância de seus resultados, aumentando a probabilidade de um alvo encontrado *in silico* realmente o ser *in vitro* e *in vivo*.

O PharmMapper utiliza o mapeamento de farmacóforos para procurar por potenciais candidatos a alvos moleculares para um dado composto (WANG *et al.*, 2017). Na molécula submetida são sugeridos farmacóforos que serão relacionados a um banco de dados de modelos farmacofóricos tridimensionais, o PharmTargetDB, anotado de todas as informações de alvos do BindingBD, TargetBank, DrugBank e PDTD (GAO *et al.*, 2008; LIU *et al.*, 2007; WANG *et al.*, 2017; WISHART *et al.*, 2017). A sugestão de farmacóforos se baseia em estudos prévios da interação de determinadas moléculas com seus alvos biológicos e os resultados obtidos tendem a gerar uma biblioteca quimicamente diversa, pois, por exemplo, se o farmacóforo é uma hidroxila procura-se por um doador de ligação de hidrogênio em determinada coordenada XYZ, permitindo uma maior diversidade de moléculas resultantes. Cada arquivo mol2 das treze formicamicinas foi individualmente submetido no PharmMapper, utilizando-se as configurações padrões. Os 300 melhores potenciais alvos moleculares para cada molécula foram obtidos, compilados em uma planilha e suas duplicatas foram removidas.

O SwissTargetPrediction é baseado na similaridade 2D e 3D das moléculas submetidas com a das moléculas de um banco de dados de compostos ativos em alvos moleculares de 5 organismos diferentes (GFELLER; MICHIELIN; ZOETE, 2013; GFELLER *et al.*, 2014). Para mensurar a similaridade química 2D é utilizado o FP2 fingerprint que quantifica a similaridade intermolecular através do coeficiente de Tanimoto, considerado um descritor topológico (GFELLER *et al.*, 2014).

Uma *fingerprint* considera a informação de grupos funcionais e certas partes de uma dada molécula (isto é, elementos subestruturais chave) como um conjunto contíguo de dígitos binários (*bitstrings*). Sua ausência representada por 0 e presença por 1, de modo a facilitar seu uso em cálculos de similaridade (MUEGGE; ISTVAN, 2003). O uso de bits permite operações lógicas serem realizadas rapidamente, possibilitando a triagem de um grande número de estruturas. O coeficiente de Tanimoto utiliza a representação de *bitstrings* da estrutura molecular para calcular a similaridade intermolecular (equação 1), sendo obtido um valor entre 0 (sem similaridade) e 1,0 (correspondência perfeita).

$$T_{AB} = \frac{c}{(a+b)-c} \quad (1)$$

Onde: a = n° de bits na molécula A; b = n° de bits na molécula B; c = n° de bits em comum entre as moléculas A e B.

Já na similaridade química 3D, são geradas 20 conformações diferentes de cada molécula e, para cada conformação, 20 vetores *Electroshape* que consistem em 18 vetores dimensionais reais (GFELLER; MICHIELIN; ZOETE, 2013; GFELLER *et al.*, 2014). O valor final de similaridade 3D entre as moléculas W e Z é calculado utilizando a menor distância Manhattan calculada ( $d_{wz}$ ) (equação 2).

$$S_{3D} = \frac{1}{\left(1 + \frac{1}{18} d_{wz}\right)} \quad (2)$$

Onde:  $d_{wz}$  = menor distância Manhattan entre as 20x20 distâncias calculadas a partir de todas as conformações possíveis de cada molécula.

Após a obtenção dos valores das similaridades 2D e 3D, a pontuação final de um alvo molecular corresponde a uma combinação de medidas de similaridade baseada em uma regressão logística desses valores, variando de 0 a 1 (GFELLER *et al.*, 2014). Uma pontuação de valor 1 será alcançada quando a molécula submetida for um ligante conhecido do alvo.

Cada arquivo SMILES das formicamicinas foi individualmente submetido ao SwissTargetPrediction, tendo sido escolhido *Homo sapiens* como a espécie na qual seriam buscados os alvos. Para cada composto submetido, uma lista de 15 alvos moleculares foi obtida como resultado. Como anteriormente, estes resultados foram compilados em uma planilha e suas duplicatas foram retiradas. Os alvos moleculares sugeridos em ambos métodos de triagem virtual reversa (isto é, na intersecção de seus resultados) foram escolhidos para passar por uma revisão bibliográfica para avaliar seu envolvimento com o desenvolvimento e progressão de carcinomas.

### 3. 3. Relação à carcinogênese

Uma pesquisa preliminar sobre informações básicas acerca dos alvos moleculares provenientes da triagem virtual reversa foi conduzida no UniProt Knowledgebase (UniProtKB) e PubChem (THE UNIPROT CONSORTIUM, 2018; KIM *et al.*, 2018). Dentre as informações obtidas estão a função, atividade catalítica, nomes alternativos e outros identificadores, expressão, interação, fármacos conhecidos e vias destes alvos. Elas

foram especialmente instrutivas e úteis em prover um panorama das macromoléculas e direcionar o foco da revisão de literatura.

A revisão bibliográfica para avaliar o envolvimento destes alvos com o desenvolvimento e progressão de carcinomas foi realizada no PubMed (NCBI, 2020). Utilizaram-se os nomes dos alvos em inglês e *cancer*, *tumor* ou *carcinogenesis* como termos de busca. Informações como o uso como alvo molecular, existência de inibidores, papel na progressão e/ou metástase de tumores, regulação dos fenótipos cancerígenos, etc, foram obtidas. De acordo com os dados coletados e analisados dos artigos revisados, os alvos foram classificados como relacionados ou não à carcinogênese. Aqueles que foram considerados como não estando envolvidos com a carcinogênese foram retirados e os alvos remanescentes foram selecionados para prosseguir no estudo.

De modo a melhor compreender a associação destes alvos moleculares com cânceres específicos, uma busca no cBioPortal v.3.4.3 foi realizada (CERAMI *et al.*, 2012; GAO *et al.*, 2013). Os dados de 32 estudos sobre cânceres e a frequência de alteração de cada alvo foram adquiridos e compilados em uma planilha (GDC DATA PORTAL, 2020). Os tipos de câncer em que a frequência de alteração dos alvos era maior que 3% foram selecionadas para construir uma rede de interação molecular integrada com esses perfis de frequência no *software* Cytoscape 3.7.1 (SHANNON, 2003). Esta rede permitiu a melhor e simultânea visualização das conexões feitas entre macromoléculas e tipos de câncer e o grau de alteração registrado para cada alvo.

As estruturas 3D dos alvos selecionados com a melhor resolução e que continham ligantes (inibidores) com informação experimental, como constante de inibição ( $K_i$ ) ou concentração inibitória média ( $IC_{50}$ ), foram obtidos no Protein Data Bank (PDB) (BERMAN *et al.*, 2000; RCSB, 2020). Os arquivos dos potenciais alvos tiveram suas unidades funcionais verificadas na ferramenta interativa PDBePISA v. 1.5.2 e foram preparados no Swiss-PDB Viewer v. 4.1.0 (KRISSINEL; HENRICK, 2007; GUEx; PEITSCH, 1997). As estruturas 3D selecionadas e refinadas que foram resolvidas sem

resíduos de aminoácidos faltando foram usadas para determinar a energia de ligação entre alvo e formicamicinas em estudos de docagem molecular. Aquelas estruturas que tinham resíduos faltando foram modeladas de modo a completá-las antes de prosseguir para a docagem.

### 3. 4. Modelagem molecular

Como algumas estruturas cristalográficas do *Protein Data Bank* contém resíduos de aminoácidos faltando, foi necessário modelar tais estruturas para preencher estes resíduos ausentes. A modelagem molecular por homologia foi realizada para os alvos necessários no programa modeller 9.14, baseado no método de satisfação por restrição espacial (WEBB; SALI, 2014). Conforme sua documentação, o modeller pode ser utilizado para completar tais resíduos através do tratamento da estrutura original (com os resíduos faltando) como um molde e o uso de sua sequência de aminoácidos completa para construir um modelo comparativo (MODELLER, 2020).

A identificação alfanumérica dos arquivos pdb dos alvos com partes faltantes foram buscados no GenBank e os arquivos FASTA destas proteínas foram obtidos (CLARK *et al.*, 2015). Os arquivos pdb foram editados no Swiss-PDB Viewer v. 4.1.0 para manter apenas os ligantes de interesse (como inibidor e cofator, por exemplo) e retirar as moléculas de água da estrutura cristalográfica (GUEx; PEITSCH, 1997).

Vinte modelos foram gerados por alvo no programa modeller 9.14 (WEBB; SALI, 2014). Os modelos obtidos tiveram seus dados compilados em uma planilha e foram ranqueados de acordo com seus escores *Discrete Optimized Protein Energy* (DOPE) normalizados. A qualidade dos cinco modelos com menor escore DOPE normalizado foi avaliada pelo serviço *web* de validação de estruturas MolProbity (CHEN *et al.*, 2009). O melhor modelo para cada modelagem foi escolhido conforme menor escore DOPE normalizado e melhores características de geometria de proteínas em geral. Os modelos escolhidos prosseguiram para a docagem molecular.

### 3. 5. Docagem molecular

Para melhor compreender a interação entre as formicamicinas e os alvos moleculares selecionados, dois métodos de docagem molecular foram empregados:

Autodock 4.2 e Autodock Vina (MORRIS *et al.*, 2009; TROTT; OLSON, 2010). Ambos foram utilizados através da interface gráfica PyRx 0.8 (DALLAKYAN; OLSON, 2014).

Um protocolo de validação da docagem para cada estrutura dos alvos complexada com um ligante foi estabelecido no Autodock 4.2 de modo a assegurar a capacidade do *software* de recuperar a posição do ligante em relação à estrutura de referência (molécula ligante presente no modelo desenvolvido) (MORRIS *et al.*, 2009). Cada ligante cristalográfico foi minimizado (campo de força uff) e convertido para arquivos pdbqt no PyRx pelo módulo de Open Babel para realizar o protocolo e a docagem posteriormente (OBOYLE *et al.*, 2011). A escolha do protocolo de docagem foi baseada na correlação entre menor energia livre de ligação estimada (EFEB; ou energia de ligação) com o menor RMSD (desvio médio quadrático). Esta correlação permite inferir que a posição preferencial no sítio catalítico é a que apresenta a menor energia de ligação tendo em vista que nas etapas subsequentes não haverá estrutura de referência para ser comparada.

Após o estabelecimento dos protocolos, cada formicamicina também foi minimizada e convertida para arquivos pdbqt pelo Open Babel no PyRx (OBOYLE *et al.*, 2011). Então, as treze formicamicinas e o ligante cristalográfico foram docados com os alvos selecionados utilizando o algoritmo de procura Lamarckian GA (MORRIS *et al.*, 1998), centro e número de pontos do grid específicos para cada estrutura e as configurações padrões do Autodock.

No caso do Autodock Vina, não é preciso estabelecer um protocolo de validação (TROTT; OLSON, 2010). Como anteriormente, para cada alvo molecular, as treze formicamicinas e o ligante original da estrutura 3D, minimizados e, em formato pdbqt, foram docados. A docagem foi realizada com as configurações padrões do Vina, exceto pelo nível de exaustão, 10, e as dimensões específicas do *grid* para cada alvo.

Em cada método, as energias de ligação estimadas para cada molécula foram comparadas entre si. A EFEB obtida para o ligante cristalográfico foi usada como limiar para determinar se as formicamicinas tinham uma chance de se ligar melhor ao alvo. Para aprofundar estes estudos, os alvos moleculares promissores, como aqueles em que ao menos uma formicamicina obteve uma energia de ligação menor que o ligante original, foram submetidos a simulações de dinâmica molecular.

### 3. 6. Dinâmica molecular

A dinâmica molecular inclui a evolução do tempo, adição de outras moléculas (como solutos e solventes) e variações termodinâmicas ao estudo da interação entre ligantes e macromoléculas ao aplicar uma integração numérica da equação de movimento de Newton (KHANNA; RANGANATHAN; PETROVSKY, 2019). Os alvos moleculares considerados promissores para uma ação antineoplásica das formicamicinas tiveram seus ligantes originais obtidos do Zinc12 (IRWIN *et al.*, 2012), nos formatos sdf ou mol2, ou suas coordenadas foram obtidas do próprio arquivo pdb e salvos em um novo arquivo pdb. A assertividade das estruturas destes compostos foi checada e protonada através do *software* PyMOL v. 2.0.7 (SCHRÖDINGER, 2020). As moléculas protonadas foram submetidas ao Automated Topology Builder (ATB) v. 2.2 e suas topologias foram obtidas como arquivos itp e pdb, para o campo de força Gromos 54A7 e no formato GROMACS (KOZIARA *et al.*, 2014; SCHMID *et al.*, 2011). A topologia das enzimas foi obtida utilizando o pacote GROMACS v.4.6.7. (ABRAHAM *et al.*, 2015), para o mesmo campo de força.

As simulações de dinâmica molecular foram realizadas utilizando GROMACS v.4.6.7. (ABRAHAM *et al.*, 2015). Uma caixa dodecaédrica com 1 nm entre a superfície proteica e as bordas da caixa foi criada para conter a macromolécula e o composto. Esta caixa foi solvatada com o modelo de água SPC e neutralizada com NaCl (150 mM) para mimetizar um tampão fisiológico. Duas minimizações (*steepest descent* e *conjugate gradient*) foram aplicadas até a convergência do gradiente energético (1000 kJ/mol e 500 kJ/mol, respectivamente) e uma restrição de posição foi realizada por 1 ns.

Cada sistema foi aquecido com incrementos graduais nas seguintes temperaturas: 50 K, 100 K, 150 K, 200 K, 250 K e 300 K. Cada temperatura foi mantida por 150 ps até a próxima ser aplicada, exceto por 50 K que já tinha sido a temperatura da etapa anterior de restrição de posição e que foi mantida por apenas mais 100 ps. Após, as temperaturas dos sistemas foram ajustadas para 310,15 K (temperatura corporal) e as velocidades em cada etapa foram reatribuídas de acordo com a distribuição de Maxwell-Boltzmann. As temperaturas do solvente e solutos para cada caso foram acopladas de forma independente a um banho térmico com um tempo de relaxamento de 0,1 ps através de um termostato de recuperação de velocidade. A pressão nos sistemas foi fracamente acoplada a um banho de

pressão de 1 atm, aplicando uma escala isotrópica e um tempo de relaxamento de 0,5 ps utilizando um barostato de Berendsen. Uma simulação de 10 ns foi realizada para três ligantes, ligante cristalográfico e melhor conformação das formicamicinas em cada método de docagem molecular (Autodock e Autodock Vina), por alvo molecular.

As estruturas 3D obtidas através das simulações de dinâmica molecular foram verificadas por inspeção visual no PyMOL v. 2.0.7 (SCHRÖDINGER, 2020). Após a concatenação das trajetórias e energias obtidas na dinâmica molecular, o pacote *g\_mmpbsa* (KUMARI; KUMAR; LYNN, 2014), implementado através do GROMACS v.4.6.7. (ABRAHAM *et al.*, 2015), foi utilizado. Este pacote executa a abordagem *Molecular Mechanics Poisson–Boltzmann Surface Area* (MM–PBSA) que estima a variação da energia livre de Gibbs ( $\Delta G$ ) para cada complexo de alvo molecular e composto (HOMEYER; GOHLKE, 2012). No cálculo realizado são consideradas a energia potencial no vácuo, a energia de solvatação polar e a energia de solvatação não polar usando um esquema de decomposição de energia. O  $\Delta G$  foi calculado para os 10 ns de cada simulação, utilizando o modelo SASA para cálculo da energia de solvatação não polar, 50 ps/frame e as configurações padrões do pacote.

## 4. RESULTADOS & DISCUSSÃO

### 4. 1. Preparação das estruturas das formicamicinas

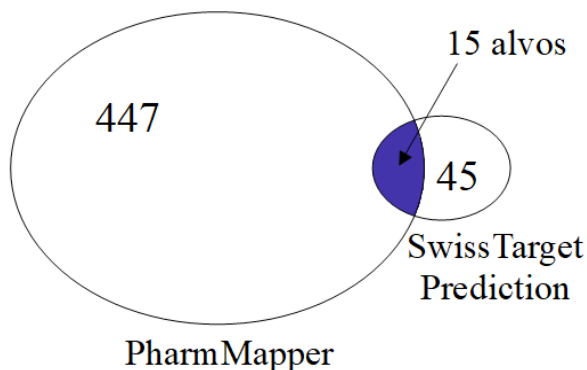
Todas estruturas 2D e 3D das formicamicinas obtidas no ChemSpider e convertidas por Open Babel versão 2.4.1 estão exibidas nas figuras A1-13. Como previamente estudado por Schuck e Caceres (2020, em preparação), estas moléculas possuem propriedade ADME-Tox (absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade) aceitáveis para serem consideradas como fármacos disponíveis por via oral. Desde sua descoberta em 2017, não houve a publicação de outros estudos tentando elucidar seus alvos moleculares ou mecanismo de ação.

### 4. 2.Triagem virtual reversa

O PharmMapper retornou 300 potenciais alvos moleculares para cada um dos treze compostos da família formicamicina (3900 no total). Após a remoção de suas duplicatas, um total de 447 potenciais alvos restou. Enquanto o SwissTargetPrediction identificou 15 potenciais alvos molecular por formicamicina (195 no total), compreendendo apenas 45 potenciais alvos após a retirada das repetições.

Após analisar os alvos remanescentes nos resultados, as macromoléculas contidas na intersecção entre os métodos foram selecionadas (figura 6) e submetidas a uma revisão bibliográfica para averiguar suas implicações no câncer. Ao todo, quinze alvos moleculares se enquadravam neste critério. Os resultados obtidos em cada servidor *web* para os mencionados alvos estão descritos na tabela 4.

**Figura 6** - Diagrama de Venn demonstrando os resultados da triagem virtual reversa.



Tendo sido removidas as duplicatas, foram encontrados 447 alvos moleculares no PharmMapper e 45 alvos no SwissTargetPrediction. Na intersecção de ambos servidores, 15 alvos estavam presentes.

**Tabela 4** - Alvos moleculares obtidos na triagem virtual reversa.

| Nome do alvo                                                  | PharmMapper          |                    |                  |                             | SwissTargetPrediction |                 |                           |          |               |
|---------------------------------------------------------------|----------------------|--------------------|------------------|-----------------------------|-----------------------|-----------------|---------------------------|----------|---------------|
|                                                               | Nº de formicamicinas | Nº de farmacóforos | <i>Fit Score</i> | <i>Normalized Fit Score</i> | Nº de formicamicinas  | Por homologia ? | Nº de compostos similares |          | Probabilidade |
|                                                               |                      |                    |                  |                             |                       |                 | 2D                        | 3D       |               |
| cGMP-específico da fosfodiesterase tipo 5                     | 13                   | 14, 13, 7          | 6,973-3,387      | 0,4980-0,3871               | 2                     | Não             | 0                         | 14 ou 13 | 0,02          |
| Fator de coagulação II                                        | 13                   | 23-9               | 7,092-3,978      | 0,4432-0,2223               | 2                     | Não             | 2                         | 15 ou 4  | 0,07          |
| Fator de coagulação VII                                       | 12                   | 22-11              | 5,094-3,264      | 0,3409-0,204                | 2                     | Sim             | 2                         | 14 ou 10 | 0,11-0,10     |
| Fator de coagulação IX                                        | 10                   | 22 ou 17           | 5,16-3,584       | 0,2377-0,2109               | 2                     | Sim             | 2                         | 14 ou 10 | 0,11-0,10     |
| Fator de coagulação X                                         | 9                    | 14 ou 11           | 4,469-2,966      | 0,3192-0,2696               | 2                     | Não             | 2                         | 14 ou 10 | 0,11-0,10     |
| Receptor de glicocorticoides                                  | 13                   | 18 ou 16           | 5,641-3,942      | 0,3134-0,2431               | 1                     | Não             | 0                         | 10       | 0,02          |
| Proteína de choque térmico 90 $\alpha$                        | 13                   | 13                 | 5,593-4,404      | 0,4303-0,3388               | 1                     | Sim             | 0                         | 16       | 0,02          |
| Receptor de fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 | 3                    | 11                 | 4,569-3,176      | 0,4153-0,2887               | 1                     | Não             | 0                         | 50       | 0,03          |
| Metaloproteinase de matriz 3                                  | 3                    | 13                 | 3,137-3,053      | 0,2413-0,2349               | 10                    | *               | 0                         | 193-79   | 0,02          |
| Metaloproteinase de matriz 8                                  | 2                    | 16 ou 11           | 3,108-2,912      | 0,2647-0,1942               | 6                     | Sim             | 0                         | 163-97   | 0,02          |
| Metaloproteinase de matriz 12                                 | 2                    | 6                  | 3,156-2,982      | 0,5261-0,497                | 6                     | Sim             | 0                         | 161-95   | 0,02          |
| Metaloproteinase de matriz 13                                 | 6                    | 17-10              | 3,798-3,081      | 0,3194-0,1959               | 5                     | Não             | 0                         | 161-135  | 0,02          |
| Receptor nuclear subfamília 1, grupo I membro 2               | 13                   | 22 ou 13           | 6,431-3,346      | 0,2923-0,2322               | 2                     | Não             | 1                         | 3 ou 2   | 0,07          |
| Receptor de progesterona                                      | 9                    | 11                 | 4,405-3,192      | 0,4005-0,2902               | 1                     | Não             | 0                         | 7        | 0,02          |
| Proteína tirosina fosfatase não receptora tipo 1              | 13                   | 17, 15, 14         | 8,037-5,244      | 0,5358-0,3084               | 7                     | Sim             | 4, 3, 1                   | 11-5     | 0,13-0,09     |

Nº de formicamicinas, quantidade de formicamicinas associadas a cada alvo molecular em cada servidor; Nº de farmacóforos, quantidade de farmacóforos sugeridos em cada molécula; *Fit score*, escore da concordância do modelo farmacofórico 3D sugerido para a formicamicina com os modelos farmacofóricos 3D de ligantes conhecidos contidos no seu banco de dados; *Normalized Fit Score*, *fit score* normalizado para uma faixa de 0 a 1; Por homologia, predições baseadas em moléculas semelhantes ativas em proteínas com nível suficiente de homologia às proteínas humanas; Nº de compostos similares, quantidade de compostos considerados similares às formicamicinas em 2D e 3D; Probabilidade, a probabilidade da proteína ser um alvo das formicamicinas (assumidas como bioativas) calculada a partir dos escores combinados dos compostos ativos nesta proteína mais semelhantes às formicamicinas (em 2D e 3D); \*Algumas formicamicinas tiveram alvos moleculares sugeridos por homologia, outras não.

#### 4. 3. Relação à carcinogênese

As informações obtidas nos bancos de dados e na literatura permitiram a associação dos alvos moleculares selecionados na triagem virtual reversa com suas funções conhecidas, particularmente sua relação com o câncer e, por fim, a exclusão dos alvos que não eram relacionados à carcinogênese. De acordo com a literatura revisada (até junho de 2019), três dos quinze alvos moleculares não possuem envolvimento conhecido com o desenvolvimento e progressão de carcinomas: fator de coagulação II (F2), fator de coagulação IX (F9) e metaloproteinase de matriz 8 (MMP8) (tabela 5).

Apesar de existirem dados sobre uma expressão alterada de seus genes em amostras cancerígenas, estes três alvos moleculares não estão implicados na carcinogênese. O fator de coagulação II, também conhecido como protrombina, é a forma inativada da trombina a qual converte fibrinogênio em fibrina (ADAMS; HUNTINGTON, 2016). A protrombina não teve relação direta com a promoção do câncer na bibliografia revisada, os artigos recuperados abordavam apenas tópicos como o seu valor prognóstico no carcinoma hepatocelular (WANG *et al.*, 2017). O fator de coagulação IX é principalmente reconhecido por sua deficiência causar hemofilia e seu nível de atividade influenciar a severidade dos sintomas de sangramento (BOTERO *et al.*, 2017). Para F9, não foram obtidos artigos na busca, também demonstrando ausência de associação. E MMP8 é considerada uma protease supressora tumoral, tendo papel protetor em alguns tipos de câncer, como câncer de mama no qual ajuda a impedir a formação de tumores ou metástase (GUTIERREZ-FERNANDEZ *et al.*, 2008; SORIA-VALLES *et al.*, 2013; THIRKETTLE *et al.*, 2013). Uma vez que a sua inibição não auxiliaria a aplacar o desenvolvimento do tumor, esta enzima foi considerada como não implicada na carcinogênese.

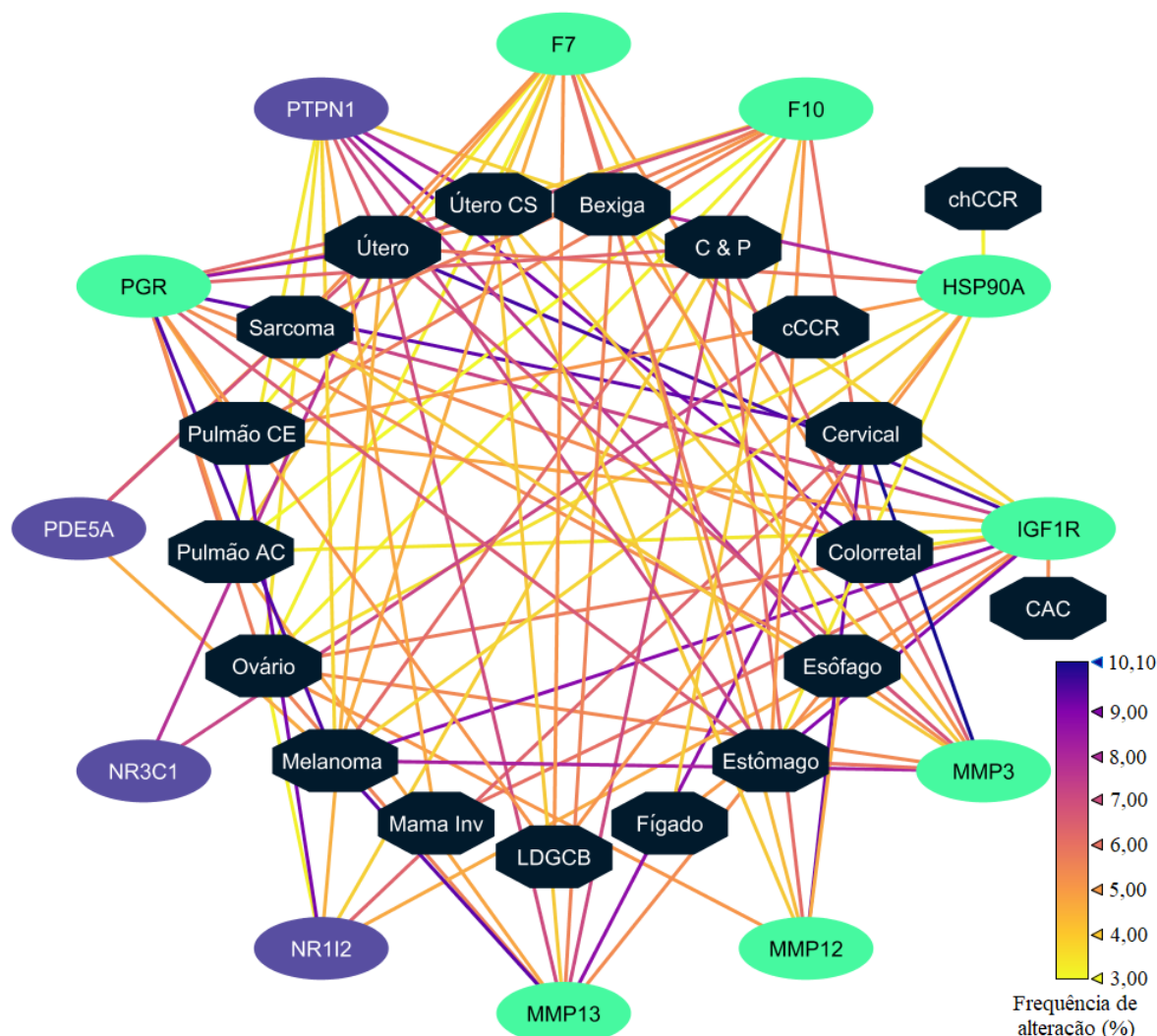
Os resultados do cBioPortal estão representados como tipo de câncer em que cada alvo está mais alterado (tabela 5) e na rede criada em que as relações entre os tipos de câncer e os alvos com frequência de alteração maior ou igual a 3% em cada câncer são exibidas (figura 7). Os resultados na tabela 5 demonstram que o tipo de câncer mais associado com os doze alvos moleculares é o câncer uterino (4), seguido pelo de bexiga, cervical e melanoma (2 cada). Estes quatro cânceres estão entre os 20 mais incidentes no globo de acordo com a taxa padronizada por idade (ASR) por 100.000 pessoas, portanto, pode-se presumir que a descoberta e desenvolvimento de um novo medicamento para esses

**Tabela 5** - Relação dos alvos moleculares à carcinogênese.

| Alvo                                                          |             |           |            |         | Relação à carcinogênese? | cBioPortal            |                             |             | Casos no globo (2018) |                      |
|---------------------------------------------------------------|-------------|-----------|------------|---------|--------------------------|-----------------------|-----------------------------|-------------|-----------------------|----------------------|
| Nome completo                                                 | Abreviação  | E.C.      | UniProt ID | Gene ID |                          | Câncer mais associado | Frequência de alteração (%) | Nº de casos | Incidência (ASR, #)   | Mortalidade (ASR, #) |
| cGMP-específico da fosfodiesterase tipo 5                     | PDE5A       | 3.1.4.35  | O76074     | 8654    | Sim                      | Uterino               | 5,86                        | 529         | 8,4 (8)               | 1,8 (17)             |
| Fator de coagulação II                                        | F2          | 3.4.21.5  | P00734     | 2147    | Não                      | -                     | -                           | -           | -                     | -                    |
| Fator de coagulação VII                                       | F7          | 3.4.21.21 | P08709     | 2155    | Sim                      | Bexiga                | 5,11                        | 411         | 5,7 (12)              | 1,9 (15)             |
| Fator de coagulação IX                                        | F9          | 3.4.21.22 | P00740     | 2158    | Não                      | -                     | -                           | -           | -                     | -                    |
| Fator de coagulação X                                         | F10         | 3.4.21.6  | P00742     | 2159    | Sim                      | Uterino               | 5,86                        | 529         | 8,4 (8)               | 1,8 (17)             |
| Receptor de glicocorticoides                                  | NR3C1       | -         | P04150     | 2908    | Sim                      | Uterino               | 6,81                        | 529         | 8,4 (8)               | 1,8 (17)             |
| Proteína de choque térmico 90 $\alpha$                        | HSP90A      | -         | P07900     | 3320    | Sim                      | Bexiga                | 7,06                        | 411         | 5,7 (12)              | 1,9 (15)             |
| Receptor de fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 | IGF1R       | 2.7.10.1  | P08069     | 3480    | Sim                      | Uterino               | 9,26                        | 529         | 8,4 (8)               | 1,8 (17)             |
| Metaloproteinase de matriz 3                                  | MMP3        | 3.4.24.17 | P08254     | 4314    | Sim                      | Cervical              | 10,1                        | 297         | 13,1 (5)              | 6,9 (7)              |
| Metaloproteinase de matriz 8                                  | MMP8        | 3.4.24.34 | P22894     | 4317    | Não                      | -                     | -                           | -           | -                     | -                    |
| Metaloproteinase de matriz 12                                 | MMP12       | 3.4.24.65 | P39900     | 4321    | Sim                      | Cervical              | 8,42                        | 297         | 13,1 (5)              | 6,9 (7)              |
| Metaloproteinase de matriz 13                                 | MMP13       | 3.4.24.-  | P45452     | 4322    | Sim                      | Melanoma              | 8,78                        | 444         | 3,1 (19)              | 0,63 (22)            |
| Receptor nuclear subfamília 1, grupo I membro 2               | NR1I2 / PXR | -         | O75469     | 8856    | Sim                      | Pulmão CE             | 8,21                        | 487         | 22,5 (3)*             | 18,6 (1)             |
| Receptor de progesterona                                      | PGR         | -         | P06401     | 5241    | Sim                      | Melanoma              | 9,01                        | 444         | 3,1 (19)              | 0,63 (22)            |
| Proteína tirosina fosfatase não receptora tipo 1              | PTPN1       | 3.1.3.48  | P18031     | 5770    | Sim                      | Colorretal            | 8,25                        | 594         | 19,7 (4)              | 8,9 (3)              |

E.C., classificação numérica das enzimas; UniProt ID, código de identificação proteico do *Universal Protein Resource* (UniProt); Gene ID, código de identificação genético do GenBank; Relação à carcinogênese, resultados da revisão de literatura no PubMed sobre a influência dos alvos na carcinogênese; Câncer mais associado, tipo de câncer em que o alvo possui maior frequência de alteração; Frequência de alteração, frequência das alterações genômicas dos alvos moleculares nos tipos de câncer citados; Nº de casos, quantidade de casos estudados em cada tipo de câncer; Incidência e mortalidade, número de casos estimados em 2018, no mundo, ambos sexos, todas as idades (FERLAY *et al.*, 2018a); ASR, taxa padronizada por idade por 100.000 pessoas; \* sendo considerado câncer de pulmão como um todo; #, classificação segundo ASR; Pulmão CE, carcinoma pulmonar de células escamosas.

**Figura 7** - Relação entre os alvos moleculares associados à carcinogênese e tipos de câncer em que sua frequência de alteração genômica é maior ou igual a 3%.



**Legenda:** Representados como elipses verdes, alvos moleculares; elipses roxas, alvos associados a todas as formicamicinas no PharmMapper; octógonos pretos, tipos de câncer. **Alvos moleculares:** F7, fator de coagulação VII; F10, fator de coagulação X; HSP90A, proteína de choque térmico 90  $\alpha$ ; IGF1R, receptor de fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1; MMP3, metaloproteinase de matriz 3; MMP12, metaloproteinase de matriz 12; MMP13, metaloproteinase de matriz 13; NR1I2, receptor nuclear subfamília 1, grupo I membro 2; NR3C1, receptor de glicocorticoides; PDE5A, cGMP-específico da fosfodiesterase tipo 5; PGR, receptor de progesterona; PTPN1, proteína tirosina fosfatase não receptora tipo 1. **Tipos de câncer:** C & P, câncer de cabeça e pescoço; CAC, carcinoma adrenocortical; cCCR, carcinoma de células renais tipo células claras; chCCR, carcinoma de células renais tipo cromóforo; LDGCB, linfoma difuso de grandes células B; Mama Inv, câncer de mama invasivo; Pulmão AC, adenocarcinoma pulmonar; Pulmão CE, câncer pulmonar de células escamosas; Útero CS, carcinosarcoma uterino. Imagem gerada no Cytoscape.

tipos de câncer impactaria muitas vidas (BRAY *et al.*, 2018; FERLAY *et al.*, 2018a; FERLAY *et al.*, 2018b).

Na figura 7, pode ser observado que todos os alvos apresentam frequência de alteração maior que 3% no carcinoma uterino, compreendendo também o carcinosarcoma

uterino (representado como útero CS). O câncer de ovário é o segundo carcinoma mais associado, não estando relacionado apenas ao cGMP-específico da fosfodiesterase tipo 5 (PDE5A) e receptor de glicocorticoides (NR3C1); seguido por câncer de bexiga e melanoma, não associados à PDE5A, NR3C1 e NR1I2 e MMP12, NR1I2 e NR3C1, respectivamente, empatados em terceiro lugar.

Ao focar nos alvos, o receptor de fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF1R) foi associado com 14 dos 19 tipos de câncer, seguindo de perto pelo receptor de progesterona (PGR; 13) e fator de coagulação VII (F7; 12). Também é importante ressaltar que as macromoléculas em roxo, NR1I2, NR3C1, PDE5A e PTPN1, foram tidas como potenciais alvos moleculares para todas as formicamicinas no PharmMapper. Estes quatro alvos tiveram pouca semelhança nos cânceres associados a eles, variando no número e em quais cânceres estavam alterados.

As estruturas cristalográficas destes doze alvos moleculares associados à carcinogênese foram obtidos no PDB (BERMAN *et al.*, 2000; RCSB, 2020). Na tabela 6, são exibidas informações acerca destas estruturas. Após inspeção visual das mesmas, quatro foram modeladas devido a partes faltantes. O restante prosseguiu diretamente para a docagem molecular.

#### 4. 4. Modelagem molecular

Houve quatro alvos com partes faltantes em suas estruturas: fator de coagulação VII (PDB ID 4JZF), metaloproteinase de matriz 3 (PDB ID 1HY7), receptor de fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (PDB ID 2OJ9) e receptor nuclear subfamília 1, grupo I membro 2 (PDB ID 4X1F). Estes alvos foram modelados a partir de suas próprias estruturas cristalográficas no modeller, conforme sugerido na documentação do programa e citado anteriormente (MODELLER, 2020). Os moldes foram editados para manter apenas os ligantes de interesse (como inibidor e cofator) e retirar as moléculas de água da estrutura. O alinhamento entre cada estrutura original (como molde) e sua sequência completa de aminoácidos encontra-se na tabela 7.

Dos 20 modelos criados, aquele com o menor escore *Discrete Optimized Protein Energy* (DOPE) normalizado foi também o com melhor qualidade segundo o MolProbity para todos os casos. O modelo 6 foi escolhido para o fator de coagulação VII, modelo 19 para o receptor de fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1, modelo 13 para a

metaloproteinase de matriz 3 e modelo 5 para o receptor nuclear subfamília 1, grupo I membro 2 (detalhado nas tabelas A1 e A2).

**Tabela 6** - Informação experimental sobre os alvos moleculares.

| Nome do alvo                                                  | PDB ID* | Resolução (Å) | Cadeia(s)                              | Unidade funcional       | Ligante |           |                                                                                    |                       | Referência |
|---------------------------------------------------------------|---------|---------------|----------------------------------------|-------------------------|---------|-----------|------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|------------|
|                                                               |         |               |                                        |                         | ID      | CID       | Fórmula                                                                            | IC <sub>50</sub> (nM) |            |
| cGMP-específico da fosfodiesterase tipo 5                     | 2CHM    | 1,60          | A <sup>†</sup>                         | Monômero                | 3P4     | 135431464 | C <sub>23</sub> H <sub>29</sub> N <sub>6</sub> O <sub>3</sub>                      | 5,5                   | 4          |
| Fator de coagulação VII                                       | 4JZF    | 1,84          | H <sup>†</sup> , L                     | Heterodímero            | 1NL     | 71660643  | C <sub>28</sub> H <sub>30</sub> N <sub>4</sub> O <sub>7</sub>                      | 175                   | 11         |
| Fator de coagulação X                                         | 4Y6D    | 1,55          | A <sup>†</sup> , B                     | Heterodímero            | 48U     | 46226324  | C <sub>19</sub> H <sub>19</sub> ClFN <sub>3</sub> O <sub>4</sub><br>S <sub>2</sub> | 4,8                   | 20         |
| Receptor de glicocorticoides                                  | 1M2Z*   | 2,50          | A <sup>†</sup> , B <sup>†</sup> , D, E | Heterotetrâmero         | DEX     | 5743      | C <sub>22</sub> H <sub>29</sub> FO <sub>5</sub>                                    | 0,5-22                | 10         |
| Proteína de choque térmico 90 α                               | 3B27    | 1,50          | A <sup>†</sup>                         | Monômero                | B2T     | 12571204  | C <sub>10</sub> H <sub>9</sub> ClN <sub>4</sub> S                                  | 750                   | 54         |
| Receptor de fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 | 2OJ9    | 2,00          | A <sup>†</sup>                         | Monômero                | BMI     | 135530418 | C <sub>22</sub> H <sub>19</sub> N <sub>7</sub> O                                   | 390                   | 81         |
| Metaloproteinase de matriz 3                                  | 1HY7    | 1,50          | A, B <sup>†</sup>                      | Monômero (preferencial) | MBS     | 446165    | C <sub>20</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>6</sub> S                                  | 4090                  | 58         |
| Metaloproteinase de matriz 12                                 | 2WO9    | 1,70          | A <sup>†</sup> , B, C, D               | Monômero                | 068     | 44186763  | C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> O <sub>4</sub>                                     | 62                    | 38         |
| Metaloproteinase de matriz 13                                 | 1XUC    | 1,70          | A <sup>†</sup> , B                     | Monômero                | PB3     | 5289109   | C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>                      | 72                    | 25         |
| Receptor nuclear subfamília 1, grupo I membro 2               | 4X1F    | 2,00          | A <sup>†</sup>                         | Homodímero              | 3WF     | 5991      | C <sub>20</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>                                     | 11,5 <sup>‡</sup>     | 23         |
| Receptor de progesterona                                      | 1A28    | 1,80          | A <sup>†</sup> , B                     | Monômero                | STR     | 5994      | C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>                                     | 5                     | 87         |
| Proteína tirosina fosfatase não receptora tipo 1              | 2F71    | 1,55          | A <sup>†</sup>                         | Monômero                | UN7     | 5327158   | C <sub>21</sub> H <sub>23</sub> N <sub>3</sub> O <sub>7</sub> S                    | 2500                  | 47         |

PDB ID, código alfanumérico de identificação no *Protein Data Bank* (PDB); Resolução, nível de detalhamento observado no mapa de densidade eletrônica da cristalografia; Cadeias, polipeptídicas; Unidade funcional, composição das subunidades das proteínas; ID, código de identificação molecular no PDB; CID, código de identificação molecular do PubChem; Fórmula, molecular; IC<sub>50</sub>, concentração inibitória média; \*Todas estruturas cristalográficas foram resolvidas pelo método de difração de raios X; \*Estrutura com uma mutação (F602S), tendo sido revertida ao seu estado natural no PyMOL; <sup>†</sup>Cadeias utilizadas na docagem e dinâmica molecular; <sup>‡</sup>K<sub>i</sub> (μM); DEX, dexametasona; 3WF, etinilestradiol; STR, progesterona.

**Tabela 7** - Alinhamentos das sequências de aminoácidos realizados no modeller.

| Nome do alvo                                                  | Molde<br>(PDB ID) | Alinhamento                                                                                                                                                                                      |
|---------------------------------------------------------------|-------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Fator de coagulação VII                                       | 4JZF              | 4JZF IVGGKVCPCGECPWQVLLLVNGAQLCGGTLINTIWVVSAAHCFDKIK NWRNLI AVLGEHDLSEHDGDEQSRRVAQVIIPSTYVPGTT<br>AA IVGGKVCPCGECPWQVLLLVNGAQLCGGTLINTIWVVSAAHCFDKIKNNWRNLI AVLGEHDLSEHDGDEQSRRVAQVIIPSTYVPGTT   |
|                                                               |                   | 4JZF NHDIALRLRLHQPVVLTLDHVVPLCLPERTFSERTLAFVRFSLVSGWGQLDRGATALELMVLNVPRLMTQDCLQQSRK V GD SPNITE<br>AA NHDIALRLRLHQPVVLTLDHVVPLCLPERTFSERTLAFVRFSLVSGWGQLDRGATALELMVLNVPRLMTQDCLQQSRKKVVGDDSPNITE |
| Metaloproteinase de matriz 3                                  | 1HY7              | 4JZF YMFCAGYSDGSKDCKGDSGGPHATHYRGTWYLTGIVSWGQCATVGHFGVYTRVSQYIEWLQKLMRSEPRPGVLLRAPFP<br>AA YMFCAGYSDGSKDCKGDSGGPHATHYRGTWYLTGIVSWGQCATVGHFGVYTRVSQYIEWLQKLMRSEPRPGVLLRAPFP                       |
|                                                               |                   | 1HY7 FRTFPGIPKWRKTHLTYRIVNYTPDLPKDAVDSAVEKALKVWEEVTPLTFSRLYEAGEADIMISFAVREHGDFYPFDGPGNVLAHAYAGP<br>AA FRTFPGIPKWRKTHLTYRIVNYTPDLPKDAVDSAVEKALKVWEEVTPLTFSRLYEAGEADIMISFAVREHGDFYPFDGPGNVLAHAYAGP |
|                                                               |                   | 1HY7 GINGDAHFDDEQWTKDTTGTNLFLVAAHEIGHSLGLFHSANTEALMYPLY LTDLTRFRLSQDDINGIQSLYGPPDSPET<br>AA GINGDAHFDDEQWTKDTTGTNLFLVAAHEIGHSLGLFHSANTEALMYPLYHSLTDLTRFRLSQDDINGIQSLYGPPDSPET                    |
|                                                               |                   | 2OJ9 ADVVVPDEWEVAREKITMSRELQGSFGMVYEGVAKGVVKDEPETRVAIKTVNEAASMRERIEFLNEASVMKEFNCHHVRL<br>AA MVSAADVVPDEWEVAREKITMSRELQGSFGMVYEGVAKGVVKDEPETRVAIKTVNEAASMRERIEFLNEASVMKEFNCHHVRL                  |
| Receptor de fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 | 2OJ9              | 2OJ9 GVVSQGGQPTLVIMELMTRGDLKSYLRLSRPE PPSLSKMIQMAGEIADGMAYLNANKFVHRDLAARNCMVAEDFTVKIGD<br>AA GVVSQGGQPTLVIMELMTRGDLKSYLRLSRPEMENNPVLAPPSLSKMIQMAGEIADGMAYLNANKFVHRDLAARNCMVAEDFTVKIGD            |
|                                                               |                   | 2OJ9 FGMTRDIYETDYRKGKGLLPVRWMSPELKDGVFTTYSVWSFGVVLWEIATLAEQPYQGLSNEQVLRVFMEGGLLDKPDNCPD<br>AA FGMTRDIYETDYRKGKGLLPVRWMSPELKDGVFTTYSVWSFGVVLWEIATLAEQPYQGLSNEQVLRVFMEGGLLDKPDNCPD                 |
|                                                               |                   | 2OJ9 MLFELMRMCWQYNPKMRPSFLEIISSEKEEMEPGFREVSYFYSEENK<br>AA MLFELMRMCWQYNPKMRPSFLEIISSEKEEMEPGFREVSYFYSEENK                                                                                       |
|                                                               |                   | 4X1F GLTEEQRMMIRELMDAQMKTFDITFSHFKNFRLPGV EAAKWSQVRKD<br>AA MKKGHHHHHHSERTGTQPLGVQGLTEEQRMMIRELMDAQMKTFDITFSHFKNFRLPGVLSGCELPELQAPSREEAAKWSQVRKD                                                 |
| Receptor nuclear subfamília 1, grupo I membro 2               | 4X1F              | 4X1F LCSLKVSLQLRGEDGSVWNYKPPADSGGKEIFSLPHMADMSTYMFKGHISFAKVISYFRDLPIEDQISLLKGAAFELCQLRFNTVFNAE<br>AA LCSLKVSLQLRGEDGSVWNYKPPADSGGKEIFSLPHMADMSTYMFKGHISFAKVISYFRDLPIEDQISLLKGAAFELCQLRFNTVFNAE   |
|                                                               |                   | 4X1F TGTWECGRLSYCLEQ QQLLEP MLKFHYMLKKQLHEEEYVLMQAISLFSFDRPGVLQHRVVDQLQEQAIFLTKSYIECNRPQP<br>AA TGTWECGRLSYCLEDTAGGFQQLLEPMLKFHYMLKKQLHEEEYVLMQAISLFSFDRPGVLQHRVVDQLQEQAIFLTKSYIECNRPQP          |
|                                                               |                   | 4X1F AHRFLFLKIMAMTELRSINAQHTQRLRLRIQDIHPFATPLMQELFGITGS<br>AA AHRFLFLKIMAMTELRSINAQHTQRLRLRIQDIHPFATPLMQELFGITGS                                                                                 |

Molde, estrutura cristalográfica utilizada como guia 3D na modelagem molecular; Alinhamento, sobreposição das sequências de aminoácidos do molde e a de referência; AA, sequência completa de aminoácidos (referência) obtida no GenBank para cada alvo molecular; espaços no alinhamento representam aminoácidos faltando.

#### 4. 5. Docagem molecular

Após o estabelecimento dos protocolos para cada alvo no Autodock (tabela 8), as formicamicinas foram docadas com os doze potenciais alvos remanescentes no Autodock e Autodock Vina. As moléculas minimizadas de formicamicinas e ligante original de cada estrutura cristalográfica obtida no PDB tiveram suas energias de ligação compiladas na tabela 9.

No caso do Autodock, a docagem molecular de oito dos doze alvos resultou em ao menos uma formicamicina obtendo uma energia livre de ligação estimada melhor que o ligante cristalográfico. Nestas instâncias, as 13 formicamicinas tiveram melhor energia de ligação com o alvo do que seu ligante original em apenas duas das docagens: receptor de glicocorticoides (PDB ID 1M2Z) e metaloproteinase de matriz 3 (PDB ID 1HY7). No geral, todas as energias de ligação de ligantes cristalográficos e melhores formicamicinas estão até 2 kcal/mol entre si, exceto pelas EFEBs no receptor de glicocorticoides (NR3C1), metaloproteinase de matriz 12 (MMP12) e metaloproteinase de matriz 13 (MMP13). Para NR3C1 e MMP12, as melhores formicamicinas (I e D, respectivamente) possuem quase 4 kcal/mol a menos que o ligante original da estrutura (dexametasona e 068, respectivamente). Já no caso do MMP13, o ligante original (PB3) possui cerca de 6 kcal/mol a menos que a melhor formicamicina (B). Portanto, todos resultados por alvo molecular estão dentro de um intervalo de 2 kcal/mol ou possuem uma formicamicina com a menor EFEB, exceto por MMP13.

Os resultados do Autodock Vina tiveram apenas dois alvos em que a energia de ligação de uma formicamicina foi melhor que o ligante original: proteína de choque térmico 90  $\alpha$  (PDB ID 3B27) e metaloproteinase de matriz 12 (PDB ID 2WO9). Como um todo, os valores de energia de ligação dos ligantes e melhores formicamicinas estavam até 1 kcal/mol entre si em 5 dos alvos e dentro de 2 kcal/mol para 4 dos alvos. Restando apenas 3 alvos moleculares em que as EFEBs tiveram mais do que 2 kcal/mol de diferença: receptor de fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (PDB ID 2OJ9; -3 kcal/mol para BMI), receptor de progesterona (PDB ID 1A28; -4 kcal/mol para STR) e metaloproteinase de matriz 13 (PDB ID 1XUC; -6 kcal/mol para PB3).

Vale ressaltar que para três alvos moleculares, o fator de coagulação X, a proteína de choque térmico 90  $\alpha$  e o receptor nuclear subfamília 1, grupo I membro 2, a mesma formicamicina obteve o menor EFEB em ambos os métodos. Mesmo a formicamicina

tendo sido a mesma, as moléculas obtiveram conformações e posições distintas em cada método de docagem. Sendo assim, estas conformações das formicamicinas foram consideradas independentemente nas simulações de dinâmica molecular.

**Tabela 8** - Protocolos de docagem estabelecidos para o Autodock.

| Nome do alvo                                                  | PDB ID | Centro do grid |         |         | Número de pontos do grid |    |    |
|---------------------------------------------------------------|--------|----------------|---------|---------|--------------------------|----|----|
|                                                               |        | X              | Y       | Z       | X                        | Y  | Z  |
| cGMP-específico da fosfodiesterase tipo 5                     | 2CHM   | 19,0245        | -6,5159 | 12,7752 | 48                       | 39 | 42 |
| Fator de coagulação VII                                       | 4JZF*  | 8,1173         | 39,1880 | 25,6023 | 48                       | 40 | 39 |
| Fator de coagulação X                                         | 4Y6D   | 8,7050         | 5,4589  | 21,6092 | 48                       | 40 | 40 |
| Receptor de glicocorticoides                                  | 1M2Z*  | 53,9050        | 66,5520 | 32,5600 | 48                       | 40 | 40 |
| Proteína de choque térmico 90 $\alpha$                        | 3B27   | 9,6803         | 2,5728  | 14,1118 | 48                       | 47 | 40 |
| Receptor de fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 | 2OJ9*  | 4,4950         | -7,3379 | 21,2579 | 48                       | 43 | 39 |
| Metaloproteinase de matriz 3                                  | 1HY7*  | 1,4120         | 45,7900 | 55,0690 | 47                       | 45 | 55 |
| Metaloproteinase de matriz 12                                 | 2WO9   | 45,8300        | 53,0440 | 11,8730 | 48                       | 42 | 43 |
| Metaloproteinase de matriz 13                                 | 1XUC   | -13,0500       | 27,0220 | 45,5720 | 49                       | 42 | 41 |
| Receptor nuclear subfamília 1, grupo I membro 2               | 4X1F*  | 11,8040        | 78,9640 | -1,6020 | 48                       | 43 | 43 |
| Receptor de progesterona                                      | 1A28   | 55,3710        | 63,9800 | 21,0830 | 48                       | 40 | 40 |
| Proteína tirosina fosfatase não receptora tipo 1              | 2F71   | 40,1790        | 10,6730 | 14,6610 | 48                       | 39 | 39 |

PDB ID, código alfanumérico de identificação no *Protein Data Bank* (PDB); Centro do grid, coordenadas X, Y e Z do centro da “rede” (grid) que especifica a região da proteína em que a docagem da molécula será realizada; Número de pontos do grid, quantidade de pontos da referida “rede” (grid), evidenciando o tamanho da mesma visto que há 0.375Å entre um ponto e outro; \*Estruturas modeladas devido partes faltantes; \*Estrutura com uma mutação (F602S), tendo sido revertida ao seu estado natural no PyMOL.

**Tabela 9** - Energia livre de ligação estimada (EFEB) dos compostos submetidos à docagem molecular.

| Nome do alvo                                                  | PDB ID | Autodock |                 | Autodock Vina |                 |
|---------------------------------------------------------------|--------|----------|-----------------|---------------|-----------------|
|                                                               |        | ID       | EFEB (kcal/mol) | ID            | EFEB (kcal/mol) |
| cGMP-específico da fosfodiesterase tipo 5                     | 2CHM   | 3P4      | -10,29          | 3P4           | -9,50           |
|                                                               |        | B        | -9,35           | C             | -8,90           |
| Fator de coagulação VII                                       | 4JZF*  | 1NL      | -8,79           | 1NL           | -8,70           |
|                                                               |        | J        | -9,14           | I             | -7,90           |
| Fator de coagulação X                                         | 4Y6D   | 48U      | -10,74          | 48U           | -9,80           |
|                                                               |        | B        | -11,39          | B             | -8,00           |
| Receptor de glicocorticoides                                  | 1M2Z*  | DEX      | -11,08          | DEX           | -10,90          |
|                                                               |        | I        | -14,94          | C             | -9,60           |
| Proteína de choque térmico 90 $\alpha$                        | 3B27   | B2T      | -7,80           | B2T           | -7,20           |
|                                                               |        | A        | -9,55           | A             | -8,20           |
| Receptor de fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 | 2OJ9*  | BMI      | -8,94           | BMI           | -9,20           |
|                                                               |        | K        | -7,50           | B/I           | -6,80           |
| Metaloproteinase de matriz 3                                  | 1HY7*  | MBS      | -7,30           | MBS           | -8,30           |
|                                                               |        | A        | -9,05           | D             | -7,60           |
| Metaloproteinase de matriz 12                                 | 2WO9   | 068      | -8,11           | 068           | -9,70           |
|                                                               |        | D        | -12,09          | B             | -9,80           |
| Metaloproteinase de matriz 13                                 | 1XUC   | PB3      | -12,07          | PB3           | -12,10          |
|                                                               |        | B        | -6,10           | I             | -6,60           |
| Receptor nuclear subfamília 1, grupo I membro 2               | 4X1F*  | 3WF      | -9,99           | 3WF           | -10,20          |
|                                                               |        | F        | -10,63          | F             | -8,80           |
| Receptor de progesterona                                      | 1A28   | STR      | -10,21          | STR           | -10,70          |
|                                                               |        | G        | -11,82          | A             | -6,80           |
| Proteína tirosina fosfatase não receptora tipo 1              | 2F71   | UN7      | -8,58           | UN7           | -8,60           |
|                                                               |        | D        | -8,53           | B             | -7,00           |

PDB ID, código alfanumérico de identificação no *Protein Data Bank* (PDB); ID, código de identificação molecular no PDB dos ligantes cristalográficos e identificação do representante da família formicamicina que obtiveram os menores EFEB; EFEB, energia livre de ligação estimada obtida na docagem molecular em cada método; \*Estruturas modeladas devido partes faltantes; \*Estrutura com uma mutação (F602S), tendo sido revertida ao seu estado natural no PyMOL; DEX, dexametasona; 3WF, etinilestradiol; STR, progesterona.

Em conjunto, os resultados mais desfavoráveis da docagem molecular foram do Autodock Vina, os três alvos em que o ligante original teve uma EFEB mais do que 2 kcal/mol menor do que o valor da formicamicina com a menor energia de ligação. No entanto, estes dados são corroborados no Autodock apenas pela metaloproteinase de matriz 13, cujo

ligante original (PB3) obteve 6 kcal/mol a menos que a melhor energia de ligação da formicamicina. Sendo assim, esses resultados não comprometeram o papel dessas macromoléculas como possíveis alvos moleculares para a família formicamicina. Por conseguinte, todos os alvos foram selecionados para prosseguir para a dinâmica molecular.

#### 4. 6. Dinâmica molecular

Para cada alvo molecular, três simulações foram realizadas: uma com o ligante original da estrutura cristalográfica e duas outras com a formicamicina com a menor energia de ligação obtida de cada método de docagem, Autodock e Autodock Vina. No total, trinta e três das trinta e seis simulações previstas foram concluídas, ou seja, apenas nove dos doze alvos moleculares possuem resultados completos (anexo C). Os três alvos que não serão discutidos são: cGMP-específico da fosfodiesterase tipo 5 (PDB ID 2CHM), proteína de choque térmico 90  $\alpha$  (PDB ID 3B27) e proteína tirosina fosfatase não receptora tipo 1 (PDB ID 2F71). Após as simulações estarem completas, a abordagem MM-PBSA foi empregada para estimar a variação da energia livre de Gibbs ( $\Delta G$ ) para cada composto (tabela 10).

Em oito dos nove casos, as formicamicinas obtiveram um  $\Delta G$  menor quando comparadas ao ligante original da estrutura tridimensional. Além disso, isto é verdade para ambas formicamicinas, provenientes dos resultados do Autodock e do Autodock Vina, para todos os oito alvos com exceção da metaloproteinase de matriz 13, em que a formicamicina I do Vina teve um valor maior que o PB3 (ligante original).

O único alvo molecular em que nenhuma formicamicina teve um  $\Delta G$  menor que o ligante cristalográfico foi o fator de coagulação X (PDB ID 4Y6D). Neste caso, as duas moléculas de formicamicina B de cada método de docagem tiveram um  $\Delta G$  maior que 48U (ligante original), -103,282 e -107,942 kcal/mol *versus* -120,554 kcal/mol, respectivamente.

Três alvos moleculares tiveram uma diferença maior que 100 kcal/mol quando comparada sua interação com o ligante original e o melhor resultado das formicamicinas (isto é, o mais negativo de  $\Delta G$ ). O receptor nuclear subfamília 1, grupo I membro 2 obteve uma diferença de 133 kcal/mol entre seu melhor ligante, formicamicina F do Autodock Vina, e o ligante original da estrutura, etinilestradiol (3WF). Enquanto as metaloproteinases da matriz 3 e 12 tiveram 101 kcal/mol entre a melhor formicamicina,

**Tabela 10** - Variação da energia livre de Gibbs ( $\Delta G$ ) estimada para os compostos a partir das simulações de dinâmica molecular.

| Nome do alvo                                                  | PDB ID | ID             | $\Delta G$ (kcal/mol) | $\ln( \Delta G )$ | DP (kcal/mol) |
|---------------------------------------------------------------|--------|----------------|-----------------------|-------------------|---------------|
| Fator de coagulação VII                                       | 4JZF*  | I <sup>‡</sup> | -124,886              | 4,827             | 21,493        |
|                                                               |        | J <sup>†</sup> | -120,332              | 4,790             | 18,974        |
|                                                               |        | 1NL            | -87,006               | 4,466             | 38,534        |
| Fator de coagulação X                                         | 4Y6D   | 48U            | -120,554              | 4,792             | 14,549        |
|                                                               |        | B <sup>‡</sup> | -107,942              | 4,682             | 15,859        |
|                                                               |        | B <sup>†</sup> | -103,282              | 4,637             | 17,211        |
| Receptor de glicocorticoides                                  | 1M2Z*  | I <sup>†</sup> | -240,247              | 5,482             | 20,694        |
|                                                               |        | C <sup>‡</sup> | -229,015              | 5,434             | 21,945        |
|                                                               |        | DEX            | -173,153              | 5,154             | 11,600        |
| Receptor de fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 | 2OJ9*  | K <sup>†</sup> | -169,950              | 5,136             | 18,993        |
|                                                               |        | B <sup>‡</sup> | -145,118              | 4,978             | 14,722        |
|                                                               |        | BMI            | -95,233               | 4,556             | 15,737        |
| Metaloproteinase de matriz 3                                  | 1HY7*  | A <sup>†</sup> | -155,390              | 5,046             | 16,241        |
|                                                               |        | D <sup>‡</sup> | -107,788              | 4,680             | 27,103        |
|                                                               |        | MBS            | -53,717               | 3,984             | 26,045        |
| Metaloproteinase de matriz 12                                 | 2WO9   | B <sup>‡</sup> | -141,089              | 4,949             | 20,580        |
|                                                               |        | D <sup>†</sup> | -125,942              | 4,836             | 24,290        |
|                                                               |        | 068            | -39,534               | 3,677             | 40,548        |
| Metaloproteinase de matriz 13                                 | 1XUC   | B <sup>†</sup> | -138,047              | 4,928             | 26,117        |
|                                                               |        | PB3            | -129,212              | 4,861             | 13,949        |
|                                                               |        | I <sup>‡</sup> | -97,209               | 4,577             | 17,005        |
| Receptor nuclear subfamília 1, grupo I membro 2               | 4X1F*  | F <sup>‡</sup> | -236,227              | 5,465             | 14,086        |
|                                                               |        | F <sup>†</sup> | -224,836              | 5,415             | 15,709        |
|                                                               |        | 3WF            | -102,728              | 4,632             | 16,361        |
| Receptor de progesterona                                      | 1A28   | G <sup>†</sup> | -244,117              | 5,498             | 26,117        |
|                                                               |        | A <sup>‡</sup> | -226,169              | 5,421             | 25,673        |
|                                                               |        | STR            | -165,270              | 5,108             | 13,501        |

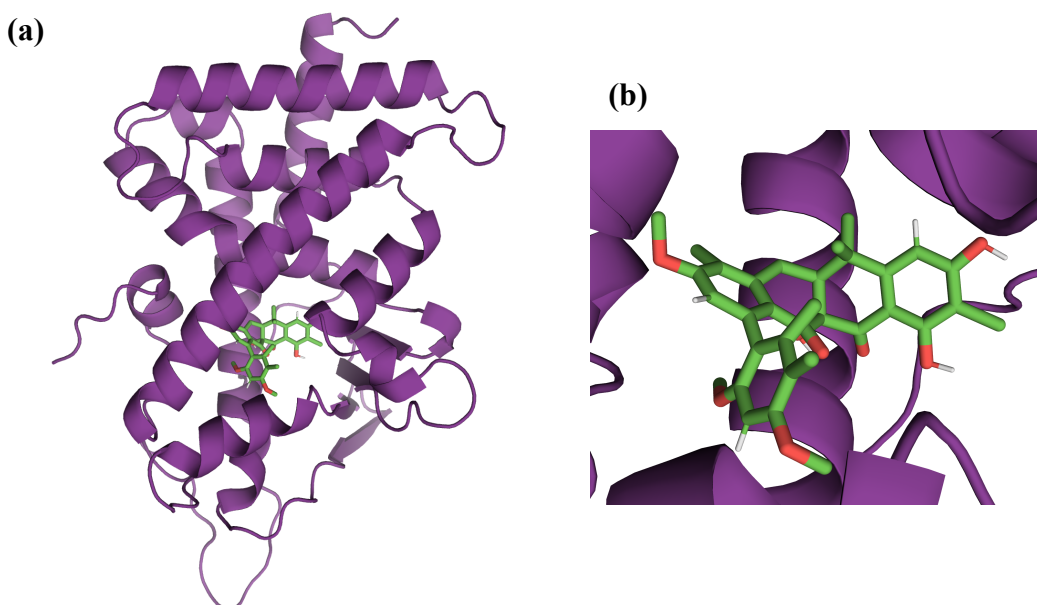
PDB ID, código alfanumérico de identificação no *Protein Data Bank* (PDB); ID, código de identificação molecular no PDB dos ligantes cristalográficos e identificação do representante da família formicamicina que obtiveram os menores  $\Delta G$ ;  $\Delta G$ , variação da energia livre de Gibbs calculada pelo g\_mmpbsa a partir dos dados da simulação de dinâmica molecular;  $\ln$ , logaritmo natural, utilizado para normalizar o  $\Delta G$ ; DP, desvio padrão; \*Estruturas modeladas devido partes faltantes; \*Estrutura com uma mutação (F602S), tendo sido revertida ao seu estado natural no PyMOL; <sup>†</sup>Formicamicinas providas do Autodock; <sup>‡</sup>Formicamicinas providas do Autodock Vina; DEX, dexametasona; 3WF, etinilestradiol; STR, progesterona.

formicamicina A do Autodock e B do Autodock Vina, respectivamente, e seus respectivos ligantes originais, MBS e 068. As estruturas do complexo proteína-ligante geradas ao final

da execução do g\_mmpbsa destes três alvos e seus ligantes com menor  $\Delta G$  estão representadas nas figuras 8 a 10.

O receptor nuclear subfamília 1, grupo I membro 2 (NR1I2, figura 8), também conhecido como receptor pregnano X (PXR), é considerado um receptor nuclear órfão que se liga a endobióticos e xenobióticos (BANERJEE; ROBBINS; CHEN, 2015; PONDUGULA; PAVEK; MANI, 2016). Seus genes alvo incluem o gene da proteína de resistência a múltiplas drogas 1 (MDR1, também conhecida como glicoproteína-P) e o gene do citocromo P450 3A4 (CYP3A4), especialmente influentes no metabolismo de fármacos (QIAO *et al.*, 2013). Além de ser um modulador da eficácia da terapia, o PXR tem sido associado à regulação da proliferação celular em tecidos e células específicos e ao desenvolvimento e progressão de tumores de vários tipos de câncer, como mama, ovário, endometrial, cervical, cólon, e próstata (CECCHIN; MATTIA; TOFFOLI, 2016; PONDUGULA; PAVEK; MANI, 2016; QIAO *et al.*, 2013). Um papel anti-apoptótico, no qual PXR talvez interaja com p53, que promove a proliferação, resistência a fármacos e um fenótipo maligno também foi demonstrado (ROBBINS *et al.*, 2016).

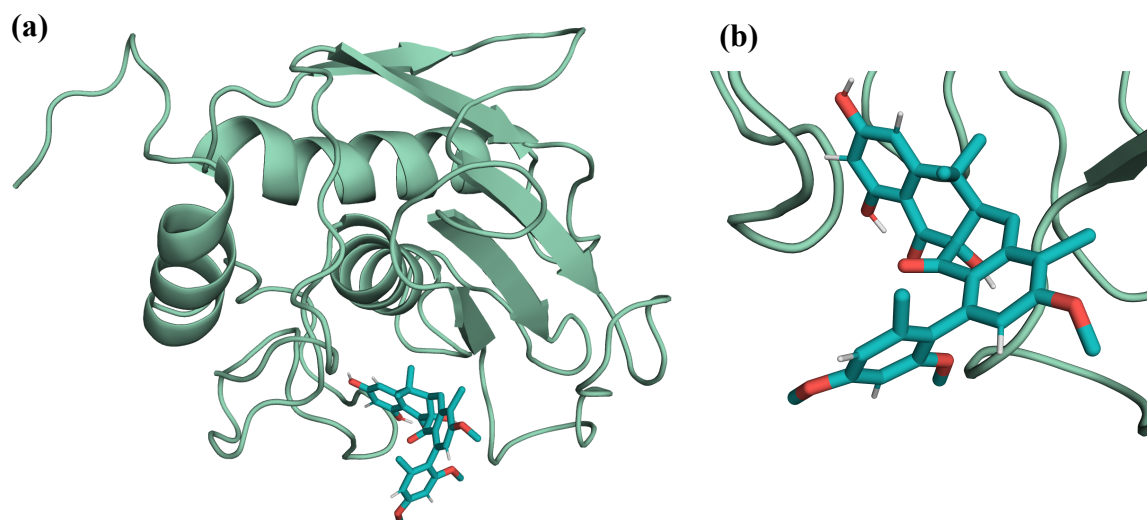
**Figura 8** - Estrutura terciária do receptor nuclear subfamília 1, grupo I membro 2 (representado como *cartoon* roxo) em complexo com a formicamicina F provida do Autodock Vina (representada como *stick* e colorida como CPK verde). **(a)** Estrutura do monômero e formicamicina mencionada. **(b)** Formicamicina em detalhe.



Imagens geradas no PyMOL.

A metaloproteinase de matriz 3 (MMP3, figura 9), também conhecida como estromelisina-1, é o membro com mais amplo espectro de substratos da família de enzimas que degradam a matriz extracelular (ECM) (LOCHTER *et al.*, 1997). Esta habilidade de degradação tem sido considerada um facilitador da invasão das células tumorais (LOCHTER *et al.*, 1997; PADALA *et al.*, 2017). Polimorfismos genéticos da MMP3 foram observados em amostras de câncer de mama e têm sido sugeridos como um promotor de tumor mamário e intensificador de suscetibilidade ao câncer (PADALA *et al.*, 2017; STERNLICHT; BISSELL; WERB, 2000).

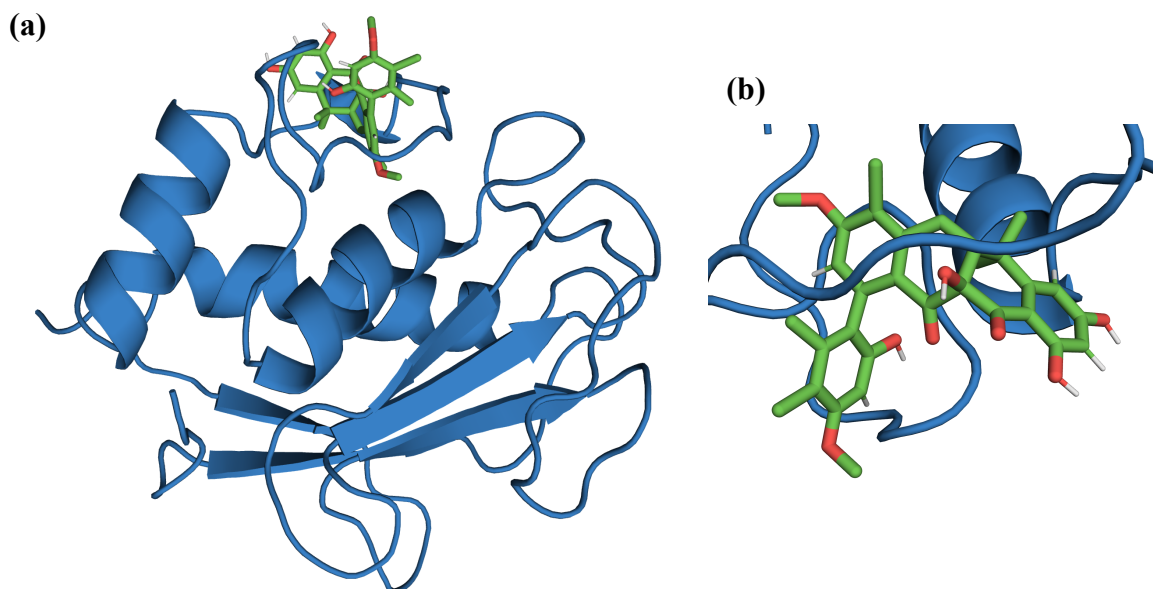
**Figura 9** - Estrutura terciária da metaloproteína de matriz 3 (representada como *cartoon* verde) em complexo com a formicamicina A provinda do Autodock (representada como *stick* e colorida como CPK azul). **(a)** Estrutura do monômero e formicamicina mencionada. **(b)** Formicamicina em detalhe.



Imagens geradas no PyMOL.

A metaloproteinase de matriz 12 (MMP12), também conhecida como macrófago metaloelastase, é um membro da mesma família de degradadores de ECM principalmente expresso em macrófagos (CATHCART; PULKOSKI-GROSS; CAO, 2015; KERKELÄ *et al.*, 2002). MMP12 possui influências conflitantes dependendo do tipo de câncer, tendo sido considerada antiangiogênica *in vivo* nos cânceres gástrico e de cólon (CHENG *et al.*, 2010; GORRIN-RIVAS *et al.*, 2001; SHI *et al.*, 2006; XU *et al.*, 2008) e pró-angiogênica e pró-metastática *in vivo* no carcinoma pulmonar (ACUFF *et al.*, 2006; ELLA *et al.*, 2018; HOUGHTON *et al.*, 2006).

**Figura 10** - Estrutura terciária da metaloproteína de matriz 12 (representada como *cartoon* azul) em complexo com a formicamicina B provinda do Autodock Vina (representada como *stick* e colorida como CPK verde). **(a)** Estrutura do monômero e formicamicina mencionada. **(b)** Formicamicina em detalhe.



Imagens geradas no PyMOL.

Os resultados obtidos permitem apontar o receptor nuclear subfamília 1, grupo I membro 2 como alvo molecular mais promissor para uma ação antineoplásica das formicamicinas, seguido pelas metaloproteinases de matriz 3 e 12, a última com algumas reservas.

## 5. CONCLUSÕES

A triagem virtual reversa é uma estratégia relativamente recente, tendo sido disseminada de modo limitado na descoberta de fármacos, apresentando uma diversidade de métodos que podem ser utilizados e não possuindo um protocolo padrão definido. Neste trabalho, fomos capazes de estabelecer um protocolo de triagem virtual reversa para a identificação de potenciais alvos moleculares para uma ação antineoplásica das formicamicinas.

Após todas as etapas, três potenciais alvos para a família formicamicina foram descobertos. Dentre os três, dois podem ser responsáveis por uma ação antineoplásica destes compostos, o receptor nuclear subfamília 1, grupo I membro 2 e a metaloproteinase de matriz 3. O potencial alvo restante, a metaloproteinase de matriz 12, poderia levar a um novo tratamento terapêutico para as formicamicinas dependendo do tipo de câncer almejado.

## 6. PERSPECTIVAS

Entre as perspectivas deste estudo estão inclusas:

- ◆ Conclusão das simulações de dinâmica molecular remanescentes, cGMP-específico da fosfodiesterase tipo 5 (PDB ID 2CHM), proteína de choque térmico 90  $\alpha$  (PDB ID 3B27) e proteína tirosina fosfatase não receptora tipo 1 (PDB ID 2F71);
- ◆ Realização de estudos sobre as interações entre compostos e macromoléculas para os três melhores resultados das simulações de dinâmicas molecular, o receptor nuclear subfamília 1, grupo I membro 2 e as metaloproteinases de matriz 3 e 12;
- ◆ Realização de ensaios de atividade enzimática e outros testes *in vitro* para estes três alvos moleculares.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABRAHAM, Mark James *et al.* GROMACS: high performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers. **SoftwareX**, v. 1-2, p. 19-25, set. 2015.
2. ACUFF, Heath B. *et al.* Analysis of Host- and Tumor-Derived Proteinases Using a Custom Dual Species Microarray Reveals a Protective Role for Stromal Matrix Metalloproteinase-12 in Non-Small Cell Lung Cancer. **Cancer Research**, v. 66, n. 16, p. 7968-7975, 15 ago. 2006.
3. ADAMS, Ty E.; HUNTINGTON, James A.. Structural transitions during prothrombin activation: on the importance of fragment 2. **Biochimie**, v. 122, p. 235-242, mar. 2016.
4. ALLERTON, Charlotte M. N. *et al.* A Novel Series of Potent and Selective PDE5 Inhibitors with Potential for High and Dose-Independent Oral Bioavailability. **Journal Of Medicinal Chemistry**, v. 49, n. 12, p. 3581-3594, jun. 2006.
5. ALMEIDA, José Ricardo Chamhum de. **Farmacêuticos em oncologia: uma nova realidade**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2010. 557 p.
6. AMERICAN CANCER SOCIETY (ACS). **Treatment Types**. Disponível em: <<https://www.cancer.org/treatment/treatments-and-side-effects/treatment-types.html>>. Acesso em: 15 out. 2019.
7. BANERJEE, Monimoy; ROBBINS, Delira; CHEN, Taosheng. Targeting xenobiotic receptors PXR and CAR in human diseases. **Drug Discovery Today**, v. 20, n. 5, p. 618-628, maio 2015.
8. BENDER, Andreas; GLEN, Robert C.. Molecular similarity: a key technique in molecular informatics. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 2, n. 22, p. 3204-3218, 2004.
9. BERMAN, H. M. *et al.* The Protein Data Bank. **Nucleic Acids Research**, v. 28, n. 1, p. 235-242, jan. 2000.
10. BLEDSOE, Randy K. *et al.* Crystal Structure of the Glucocorticoid Receptor Ligand Binding Domain Reveals a Novel Mode of Receptor Dimerization and Coactivator Recognition. **Cell**, v. 110, n. 1, p. 93-105, jul. 2002.
11. BOLTON, Scott A. *et al.* Discovery of nonbenzamidine factor VIIa inhibitors using a biaryl acid scaffold. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 23, n. 18, p. 5239-5243, set. 2013.

12. BOTERO, Juliana Perez *et al.* Factor IX Gene (F9) Genotyping Trends and Spectrum of Mutations Identified: a reference laboratory experience. **Seminars In Thrombosis And Hemostasis**, v. 44, n. 03, p. 287-292, set. 2017.
13. BRAY, Freddie *et al.* Global cancer statistics 2018: globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 68, n. 6, p. 394-424, set. 2018.
14. CATHCART, Jillian; PULKOSKI-GROSS, Ashleigh; CAO, Jian. Targeting matrix metalloproteinases in cancer: bringing new life to old ideas. **Genes & Diseases**, v. 2, n. 1, p. 26-34, mar. 2015.
15. CECCHIN, Erika; MATTIA, Elena de; TOFFOLI, Giuseppe. Nuclear receptors and drug metabolism for the personalization of cancer therapy. **Expert Opinion On Drug Metabolism & Toxicology**, v. 12, n. 3, p. 291-306, fev. 2016.
16. CERAMI, Ethan *et al.* The cBio Cancer Genomics Portal: an open platform for exploring multidimensional cancer genomics data. **Cancer Discovery**, v. 2, n. 5, p. 401-404, maio 2012.
17. CHEN, Vincent B. *et al.* MolProbity: all-atom structure validation for macromolecular crystallography. **Acta Crystallographica Section D Biological Crystallography**, v. 66, n. 1, p. 12-21, dez. 2009.
18. CHENG, Peng *et al.* Human Macrophage Metalloelastase Correlates with Angiogenesis and Prognosis of Gastric Carcinoma. **Digestive Diseases And Sciences**, v. 55, n. 11, p. 3138-3146, fev. 2010.
19. CLARK, Karen *et al.* GenBank. **Nucleic Acids Research**, v. 44, n. D1, p. D67-D72, nov. 2015.
20. CONVERY, M.A.. **4Y6D**: Factor Xa complex with GTC000101. 2015. Disponível em: <https://www.rcsb.org/structure/4y6d>. Acesso em: 13 maio 2020.
21. DALLAKYAN, Sargis; OLSON, Arthur J.. Small-Molecule Library Screening by Docking with PyRx. **Methods In Molecular Biology**, v. 1263, p. 243-250, dez. 2014.
22. DEHM, Scott M; BONHAM, Keith. SRC gene expression in human cancer: the role of transcriptional activation. **Biochemistry And Cell Biology**, Saskatoon, v. 82, n. 2, p.263-274, abr. 2004.
23. DELFOSSE, Vanessa *et al.* Synergistic activation of human pregnane X receptor by binary cocktails of pharmaceutical and environmental compounds. **Nature Communications**, v. 6, n. 1, p. 1-10, set. 2015.
24. ELLA, Ezra *et al.* Matrix metalloproteinase 12 promotes tumor propagation in the lung. **The Journal Of Thoracic And Cardiovascular Surgery**, v. 155, n. 5, p. 2164-2175, maio 2018.

25. ENGEL, Christian K. *et al.* Structural Basis for the Highly Selective Inhibition of MMP-13. **Chemistry & Biology**, v. 12, n. 2, p. 181-189, fev. 2005.
26. FENG, Zhiyang *et al.* Environmental DNA-Encoded Antibiotics Fasamycins A and B Inhibit FabF in Type II Fatty Acid Biosynthesis. **Journal Of The American Chemical Society**, New York, v. 134, n. 6, p.2981-2987, 15 fev. 2012.
27. FERLAY, J. *et al.* Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: globocan sources and methods. **International Journal Of Cancer**, v. 144, n. 8, p. 1941-1953, dez. 2018b.
28. FERLAY, J. *et al.* International Agency For Research On Cancer (IARC). **Global Cancer Observatory: Cancer Today**. 2018a. Disponível em: <https://gco.iarc.fr/today>. Acesso em: 20 jun. 2020.
29. GAO, J. *et al.* Integrative Analysis of Complex Cancer Genomics and Clinical Profiles Using the cBioPortal. **Science Signaling**, v. 6, n. 269, p. 1-34, mar. 2013.
30. GAO, Zhenting *et al.* PDTD: a web-accessible protein database for drug target identification. **BMC Bioinformatics**, v. 9, n. 1, p. 104-110, fev. 2008.
31. GENOMIC DATA COMMONS DATA PORTAL (GDC DATA PORTAL). National Institute Of Health. **Harmonized Cancer Datasets**. 2020. Disponível em: <https://portal.gdc.cancer.gov/>. Acesso em: 3 nov. 2019.
32. GFELLER, David *et al.* SwissTargetPrediction: a web server for target prediction of bioactive small molecules. **Nucleic Acids Research**, v. 42, n. W1, p. W32-W38, maio 2014.
33. GFELLER, David; MICHIELIN, Olivier; ZOETE, Vincent. Shaping the interaction landscape of bioactive molecules. **Bioinformatics**, Lausanne, v. 29, n. 23, p.3073-3079, 17 set. 2013.
34. GORRIN-RIVAS, Manuel J. *et al.* Mouse macrophage metalloelastase gene delivery by HVJ-cationic liposomes in experimental antiangiogenic gene therapy for murine CT-26 colon cancer. **International Journal Of Cancer**, v. 93, n. 5, p. 731-735, 2001.
35. GUEX, Nicolas; PEITSCH, Manuel C.. SWISS-MODEL and the Swiss-Pdb Viewer: an environment for comparative protein modeling. **Electrophoresis**, v. 18, n. 15, p. 2714-2723, dez. 1997.
36. GUTIERREZ-FERNANDEZ, A. *et al.* Matrix Metalloproteinase-8 Functions as a Metastasis Suppressor through Modulation of Tumor Cell Adhesion and Invasion. **Cancer Research**, v. 68, n. 8, p. 2755-2763, abr. 2008.
37. HANAHAN, Douglas; WEINBERG, Robert A.. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. **Cell**, Lausanne, v. 144, n. 5, p.646-674, mar. 2011.

38. HOLMES, Ian P. *et al.* The identification of  $\beta$ -hydroxy carboxylic acids as selective MMP-12 inhibitors. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 19, n. 19, p. 5760-5763, out. 2009.

39. HOMEYER, Nadine; GOHLKE, Holger. Free Energy Calculations by the Molecular Mechanics Poisson-Boltzmann Surface Area Method. **Molecular Informatics**, Düsseldorf, v. 31, n. 2, p.114-122, 10 jan. 2012.

40. HOUGHTON, A. McGarry *et al.* Macrophage Elastase (Matrix Metalloproteinase-12) Suppresses Growth of Lung Metastases. **Cancer Research**, v. 66, n. 12, p. 6149-6155, jun. 2006.

41. INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA (INCA). **Estimativa 2018**: Incidência de Câncer no Brasil. Rio de Janeiro: Inca, 2017. 128 p. Disponível em: <<http://www.inca.gov.br/estimativa/2018/estimativa-2018.pdf>>. Acesso em: 15 out. 2018.

42. IRWIN, John J. *et al.* ZINC: a free tool to discover chemistry for biology. **Journal Of Chemical Information And Modeling**, v. 52, n. 7, p. 1757-1768, 15 jun. 2012.

43. JOHNSON, Mark A.; MAGGIORA, Gerald M. (ed.). **Concepts and Applications of Molecular Similarity**. New York: Wiley, 1990. 393 p.

44. KERKELÄ, Erja *et al.* Metalloelastase (MMP-12) expression by tumour cells in squamous cell carcinoma of the vulva correlates with invasiveness, while that by macrophages predicts better outcome. **The Journal Of Pathology**, v. 198, n. 2, p. 258-269, jul. 2002.

45. KHANNA, Varun; RANGANATHAN, Shoba; PETROVSKY, Nikolai. Rational Structure-Based Drug Design. **Encyclopedia Of Bioinformatics And Computational Biology**, Adelaide, v. 2, p.585-600, 2019.

46. KIM, Sunghwan *et al.* PubChem 2019 update: improved access to chemical data. **Nucleic Acids Research**, v. 47, n. D1, p. D1102-D1109, out. 2018.

47. KLOPFENSTEIN, Sean R. *et al.* 1,2,3,4-Tetrahydroisoquinoliny sulfamic acids as phosphatase PTP1B inhibitors. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 16, n. 6, p. 1574-1578, mar. 2006.

48. KOZIARA, Katarzyna B. *et al.* Testing and validation of the Automated Topology Builder (ATB) version 2.0: prediction of hydration free enthalpies. **Journal Of Computer-aided Molecular Design**, v. 28, n. 3, p. 221-233, jan. 2014.

49. KRISSINEL, Evgeny; HENRICK, Kim. Inference of Macromolecular Assemblies from Crystalline State. **Journal Of Molecular Biology**, v. 372, n. 3, p. 774-797, set. 2007.

**50.** KUBINYI, Hugo. Similarity and Dissimilarity: a medicinal chemist's view. **Perspectives In Drug Discovery And Design**, v. 9, p. 225-252, 1998.

**51.** KUMARI, Rashmi; KUMAR, Rajendra; LYNN, Andrew. G\_mmpbsa—A GROMACS Tool for High-Throughput MM-PBSA Calculations. **Journal Of Chemical Information And Modeling**, v. 54, n. 7, p. 1951-1962, jun. 2014.

**52.** LIU, T. *et al.* BindingDB: a web-accessible database of experimentally determined protein-ligand binding affinities. **Nucleic Acids Research**, v. 35, n. Database, p. D198-D201, jan. 2007.

**53.** LOCHTER, André *et al.* Misregulation of Stromelysin-1 Expression in Mouse Mammary Tumor Cells Accompanies Acquisition of Stromelysin-1-dependent Invasive Properties. **Journal Of Biological Chemistry**, v. 272, n. 8, p. 5007-5015, fev. 1997.

**54.** MIURA, Takaaki *et al.* Lead generation of heat shock protein 90 inhibitors by a combination of fragment-based approach, virtual screening, and structure-based drug design. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 21, n. 19, p. 5778-5783, out. 2011.

**55.** MODELLER. University Of California San Francisco. **Missing residues**. Disponível em: <https://salilab.org/modeller/wiki/Missing%20residues>. Acesso em: 06 fev. 2020.

**56.** MORRIS, Garrett M. *et al.* AutoDock4 and AutoDockTools4: automated docking with selective receptor flexibility. **Journal Of Computational Chemistry**, v. 30, n. 16, p. 2785-2791, dez. 2009.

**57.** MORRIS, Garrett M. *et al.* Automated Docking Using a Lamarckian Genetic Algorithm and an Empirical Binding Free Energy Function. **Journal Of Computational Chemistry**, v. 19, n. 14, p. 1639-1662, jun. 1998.

**58.** MUEGGE, Ingo; ISTVAN, Enyedy. Virtual Screening. In: ABRAHAM, Donald J. (ed.). **Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery: Volume 1 - Drug Discovery**. 6. ed. Hoboken: Wiley-interscience, 2003.

**59.** NATCHUS, Michael G. *et al.* Development of New Carboxylic Acid-Based MMP Inhibitors Derived from Functionalized Propargylglycines. **Journal Of Medicinal Chemistry**, v. 44, n. 7, p. 1060-1071, mar. 2001.

**60.** NATIONAL CANCER INSTITUTE (NCI). **Types of Cancer Treatment**. Disponível em: <<https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types>>. Acesso em: 15 out. 2018.

**61.** NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION (NCBI). **PubMed**. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>. Acesso em: 31 maio 2020.

62. O'BOYLE, Noel M *et al.* Open Babel: an open chemical toolbox. **Journal Of Cheminformatics**, Pittsburgh, v. 3, n. 1, p. 1-14, 7 out. 2011.
63. PADALA, Chiranjeevi *et al.* Synergistic effect of collagenase-1 (MMP1), stromelysin-1 (MMP3) and gelatinase-B (MMP9) gene polymorphisms in breast cancer. **Plos One**, v. 12, n. 9, p. 1-19, set. 2017.
64. PECORINO, Lauren. **Molecular Biology of Cancer: Mechanisms, Targets, and Therapeutics**. 3. ed. Oxford: Oxford University Press, 2012. 365 p.
65. PONDUGULA, Satyanarayana R.; PAVEK, Petr; MANI, Sridhar. Pregnane X Receptor and Cancer: context-specificity is key. **Nuclear Receptor Research**, v. 3, p. 1-20, 2016.
66. QIAO, Enqi *et al.* Expression of the PXR gene in various types of cancer and drug resistance. **Oncology Letters**, v. 5, n. 4, p. 1093-1100, jan. 2013.
67. QIN, Zhiwei *et al.* Formicamycins, antibacterial polyketides produced by *Streptomyces formicae* isolated from African *Tetraponera* plant-ants. **Chemical Science**, Norwich, v. 8, n. 4, p.3218-3227, fev. 2017.
68. RESEARCH COLLABORATORY FOR STRUCTURAL BIOINFORMATICS (RCSB). **Protein Data Bank (PDB)**. Disponível em: <https://www.rcsb.org/>. Acesso em: 31 maio 2020.
69. ROBBINS, D. *et al.* PXR interaction with p53: a meeting of two masters. **Cell Death & Disease**, v. 7, n. 5, p. e2218-e2218, maio 2016.
70. ROYAL SOCIETY OF CHEMISTRY (RSC). **ChemSpider**: search and share chemistry. Search and share chemistry. 2020. Disponível em: <http://www.chemspider.com/>. Acesso em: 13 abr. 2020.
71. SCHMID, Nathan *et al.* Definition and testing of the GROMOS force-field versions 54A7 and 54B7. **European Biophysics Journal**, v. 40, n. 7, p. 843-856, abr. 2011.
72. SCHRÖDINGER. **PyMOL**. 2020. Disponível em: <https://pymol.org/2/>. Acesso em: 7 maio 2020.
73. SCHUCK, B.; CACERES, R. A. (em preparação). Searching for molecular targets: the formicamycin family's case.
74. SHANNON, P. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. **Genome Research**, v. 13, n. 11, p. 2498-2504, nov. 2003.
75. SHI, Hai *et al.* Transfection of mouse macrophage metalloelastase gene into murine CT-26 colon cancer cells suppresses orthotopic tumor growth, angiogenesis and

vascular endothelial growth factor expression. **Cancer Letters**, v. 233, n. 1, p. 139-150, fev. 2006.

76. SORIA-VALLES, C *et al.* The anti-metastatic activity of collagenase-2 in breast cancer cells is mediated by a signaling pathway involving decorin and miR-21. **Oncogene**, v. 33, n. 23, p. 3054-3063, jul. 2013.

77. STERNLICHT, Mark D; BISSELL, Mina J; WERB, Zena. The matrix metalloproteinase stromelysin-1 acts as a natural mammary tumor promoter. **Oncogene**, v. 19, n. 8, p. 1102-1113, fev. 2000.

78. THE UNIPROT CONSORTIUM. UniProt: a worldwide hub of protein knowledge. **Nucleic Acids Research**, v. 47, n. D1, p. D506-D515, nov. 2018.

79. THIRKETTLE, Sally *et al.* Matrix Metalloproteinase 8 (Collagenase 2) Induces the Expression of Interleukins 6 and 8 in Breast Cancer Cells. **Journal Of Biological Chemistry**, v. 288, n. 23, p. 16282-16294, abr. 2013.

80. TORRE, Lindsey A. *et al.* Global cancer statistics, 2012. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, Atlanta, v. 65, n. 2, p.87-108, 4 fev. 2015.

81. TROTT, Oleg; OLSON, Arthur J.. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. **Journal Of Computational Chemistry**, v. 31, n. 2, p. 455-461, jan. 2010.

82. VELAPARTHI, Upender *et al.* Discovery and initial SAR of 3-(1H-benzo[d]imidazol-2-yl)pyridin-2(1H)-ones as inhibitors of insulin-like growth factor 1-receptor (IGF-1R). **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 17, n. 8, p. 2317-2321, abr. 2007.

83. WANG, Xia *et al.* PharmMapper 2017 update: a web server for potential drug target identification with a comprehensive target pharmacophore database. **Nucleic Acids Research**, v. 45, n. W1, p. W356-W360, maio 2017.

84. WANG, Xue-ping *et al.* A retrospective discussion of the prognostic value of combining prothrombin time(PT) and fibrinogen(Fbg) in patients with Hepatocellular carcinoma. **Journal Of Cancer**, v. 8, n. 11, p. 2079-2087, 2017.

85. WEBB, Benjamin; SALI, Andrej. Comparative Protein Structure Modeling Using MODELLER. **Current Protocols In Bioinformatics**, v. 47, n. 1, p. 5.6.1-5.6.32, set. 2014.

86. WEINBERG, Robert A.. **How Cancer Arises**. Scientific American, New York, v. 275, n. 3, p.62-70, set. 1996. Disponível em: <<https://pdfs.semanticscholar.org/7326/77a14c30b3d6ffd434e4eddc7ea3c555456d.pdf>>. Acesso em: 27 out. 2018.

87. WILLETT, Peter; BARNARD, John M.; DOWNS, Geoffrey M.. Chemical Similarity Searching. **Journal Of Chemical Information And Computer Sciences**, v. 38, n. 6, p. 983-996, nov. 1998.

88. WILLIAMS, Shawn P.; SIGLER, Paul B.. Atomic structure of progesterone complexed with its receptor. **Nature**, v. 393, n. 6683, p. 392-396, maio 1998.

89. WISHART, David S *et al.* DrugBank 5.0: a major update to the drugbank database for 2018. **Nucleic Acids Research**, v. 46, n. D1, p. D1074-D1082, nov. 2017.

90. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Cancer**. 2018. Disponível em: <<http://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/cancer>>. Acesso em: 15 out. 2018.

91. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **WHO list of priority medical devices for cancer management**. Geneva: World Health Organization, 2017. 252 p.

92. XU, Zhangwei *et al.* Mouse macrophage metalloelastase generates angiostatin from plasminogen and suppresses tumor angiogenesis in murine colon cancer. **Oncology Reports**, v. 20, p. 81-88, jul. 2008.

93. ZAN, L. *et al.* Src regulates angiogenic factors and vascular permeability after focal cerebral ischemia–reperfusion. **Neuroscience**, Shanxi, v. 262, p.118-128, mar. 2014.

## 8. APÊNDICES

### APÊNDICE A – Estruturas 2D e 3D das formicamicinas A-M.

#### Legenda\*

#### Estrutura bidimensional (2D)

Preto = Átomos de carbono e hidrogênio;

Verde = Átomo de cloro;

Vermelho = Átomo de oxigênio / grupo hidroxila;

Marrom = Átomo de bromo.

#### Estrutura tridimensional (3D)

Branco = Átomo de hidrogênio;

Cinza = Átomo de carbono;

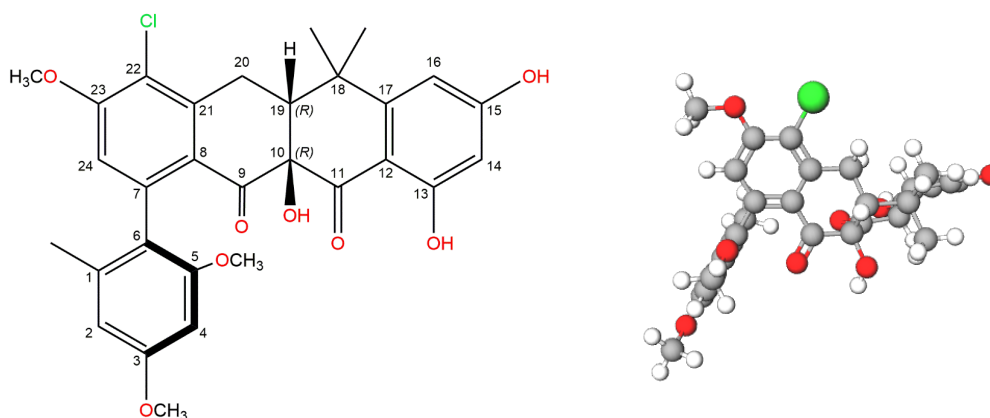
Verde = Átomo de cloro;

Vermelho = Átomo de oxigênio;

Vermelho escuro = Átomo de bromo.

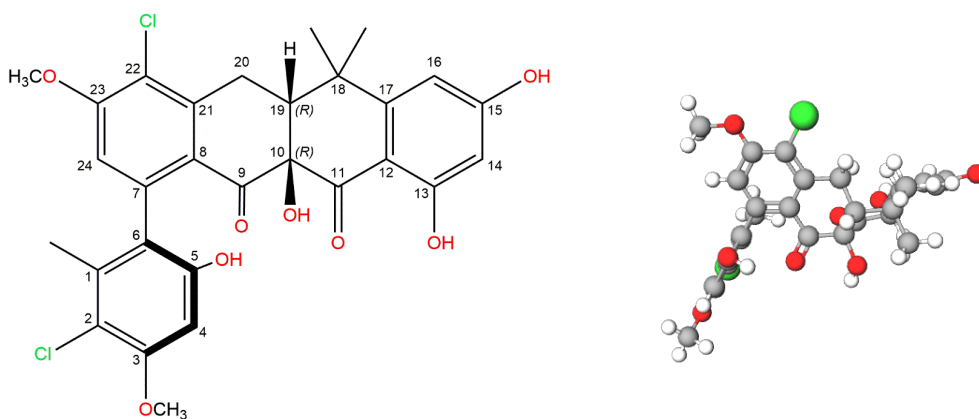
\*se aplica a todas as figuras seguintes.

**Figura A1** - Estruturas moleculares 2D (esquerda) e 3D (direita) da formicamicina A.



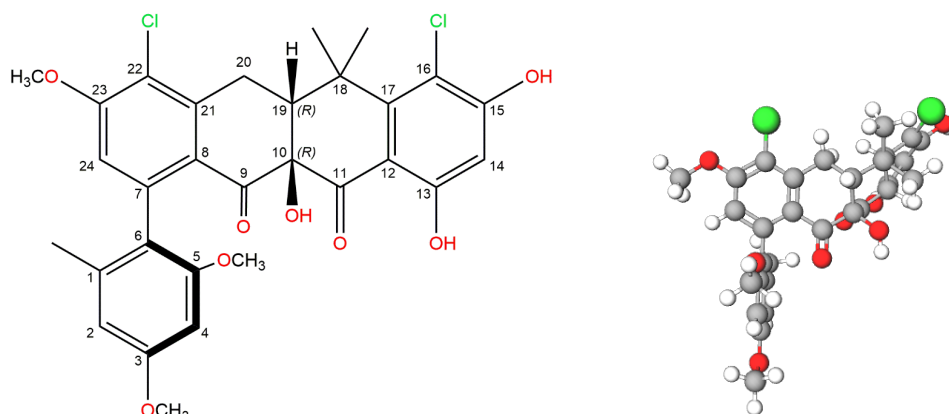
Imagens geradas no ChemDraw Professional 17.1 e Molview, respectivamente.

**Figura A2** - Estruturas moleculares 2D (esquerda) e 3D (direita) da formicamicina B.



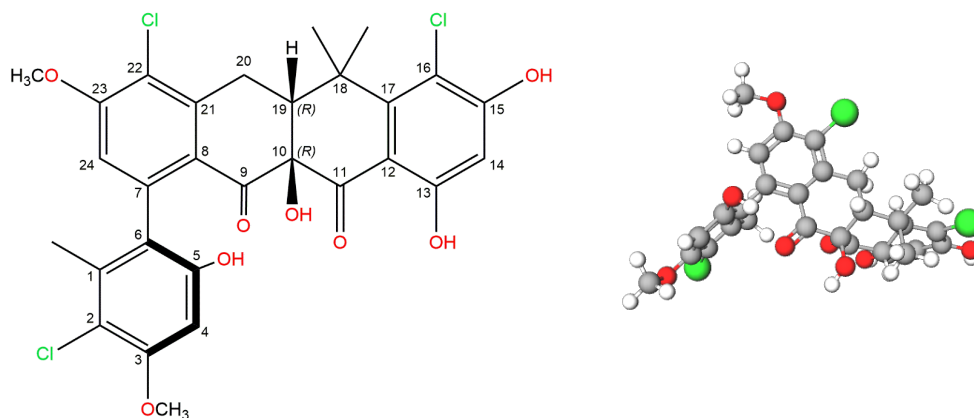
Imagens geradas no ChemDraw Professional 17.1 e Molview, respectivamente.

**Figura A3** - Estruturas moleculares 2D (acima) e 3D (abaixo) da formicamicina C.



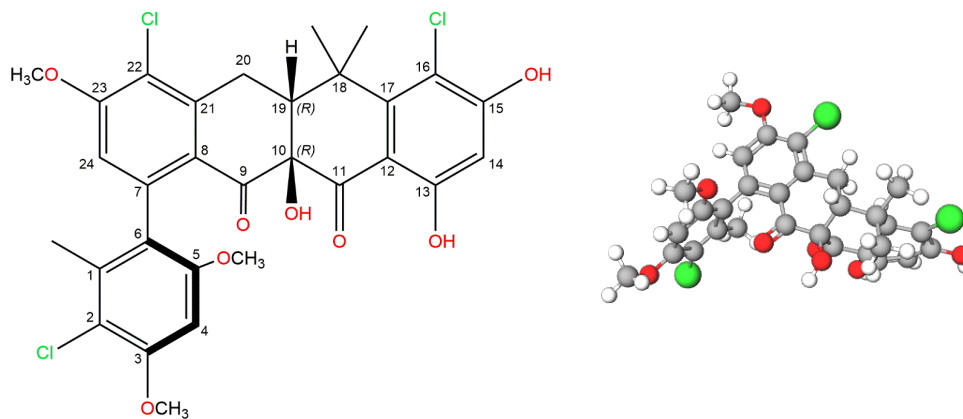
Imagens geradas no ChemDraw Professional 17.1 e Molview, respectivamente.

**Figura A4** - Estruturas moleculares 2D (esquerda) e 3D (direita) da formicamicina D.



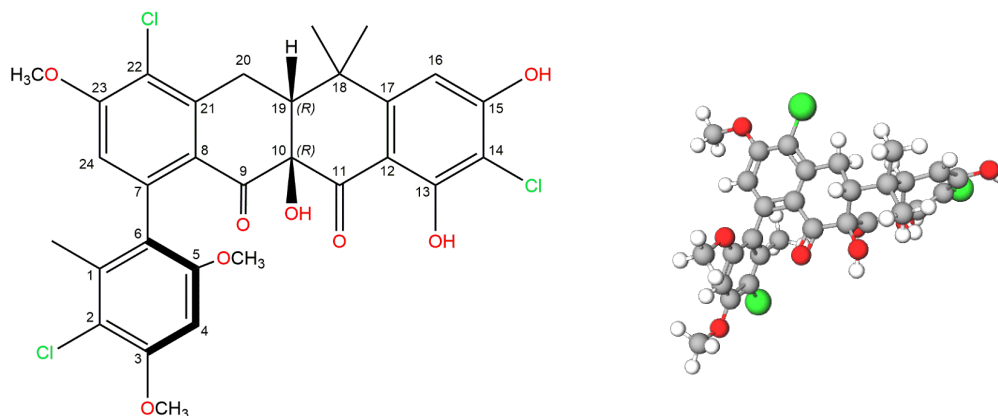
Imagens geradas no ChemDraw Professional 17.1 e Molview, respectivamente.

**Figura A5** - Estruturas moleculares 2D (esquerda) e 3D (direita) da formicamicina E.



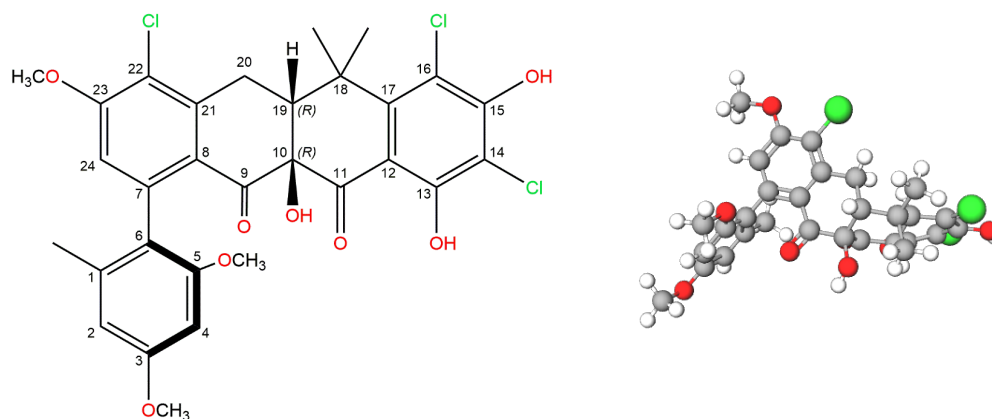
Imagens geradas no ChemDraw Professional 17.1 e Molview, respectivamente.

**Figura A6** - Estruturas moleculares 2D (esquerda) e 3D (direita) da formicamicina F.



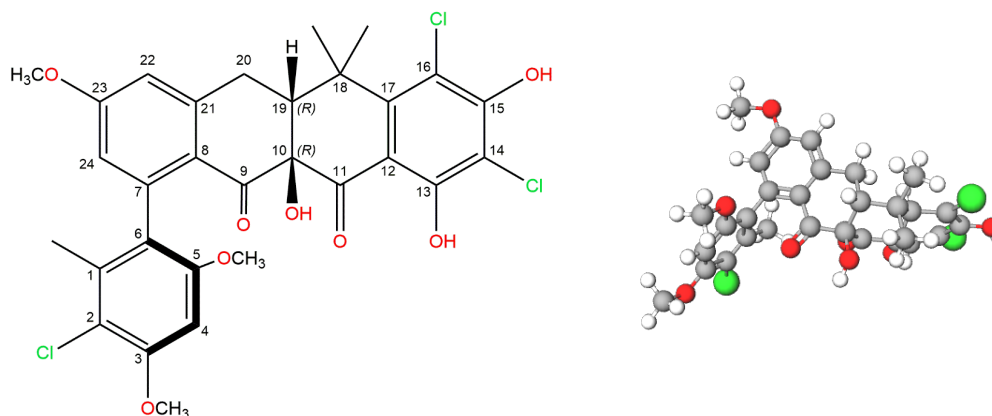
Imagens geradas no ChemDraw Professional 17.1 e Molview, respectivamente.

**Figura A7** - Estruturas moleculares 2D (esquerda) e 3D (direita) da formicamicina G.



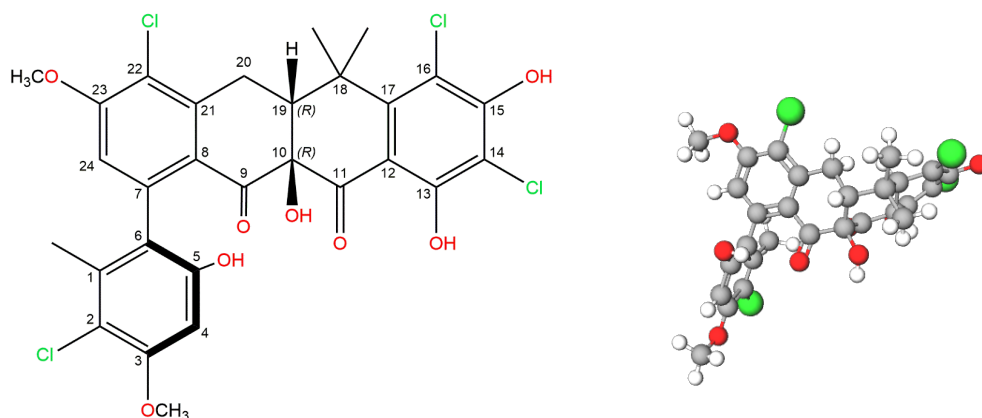
Imagens geradas no ChemDraw Professional 17.1 e Molview, respectivamente.

**Figura A8** - Estruturas moleculares 2D (esquerda) e 3D (direita) da formicamicina H.



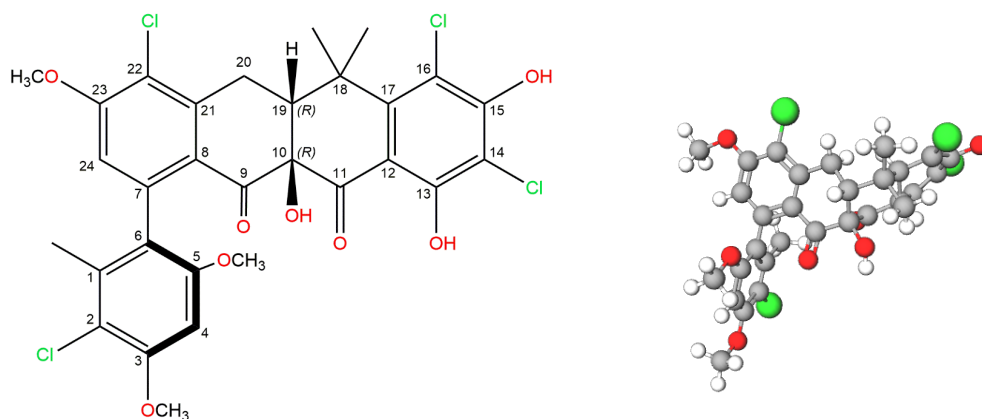
Imagens geradas no ChemDraw Professional 17.1 e Molview, respectivamente.

**Figura A9** - Estruturas moleculares 2D (esquerda) e 3D (direita) da formicamicina I.



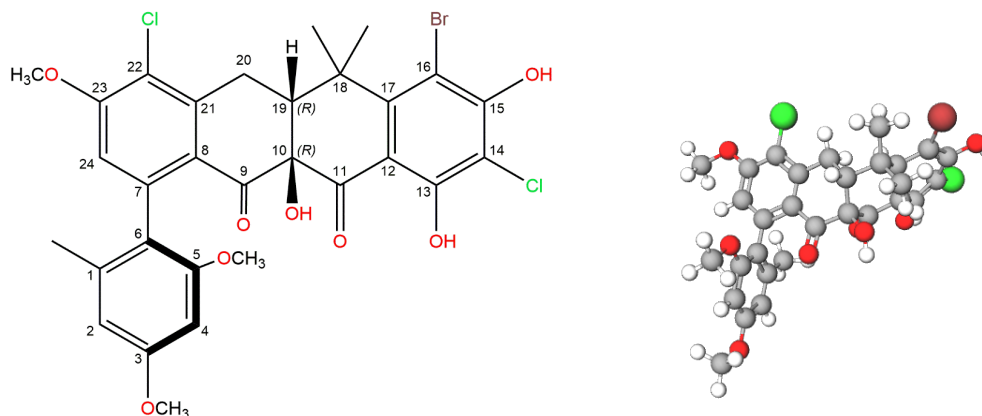
Imagens geradas no ChemDraw Professional 17.1 e Molview, respectivamente.

**Figura A10** - Estruturas moleculares 2D (esquerda) e 3D (direita) da formicamicina J.



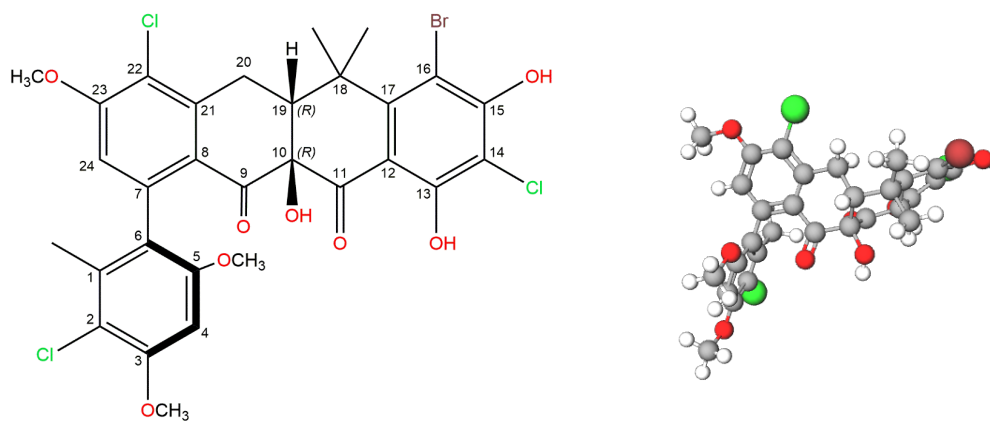
Imagens geradas no ChemDraw Professional 17.1 e Molview, respectivamente.

**Figura A11** - Estruturas moleculares 2D (esquerda) e 3D (direita) da formicamicina K.



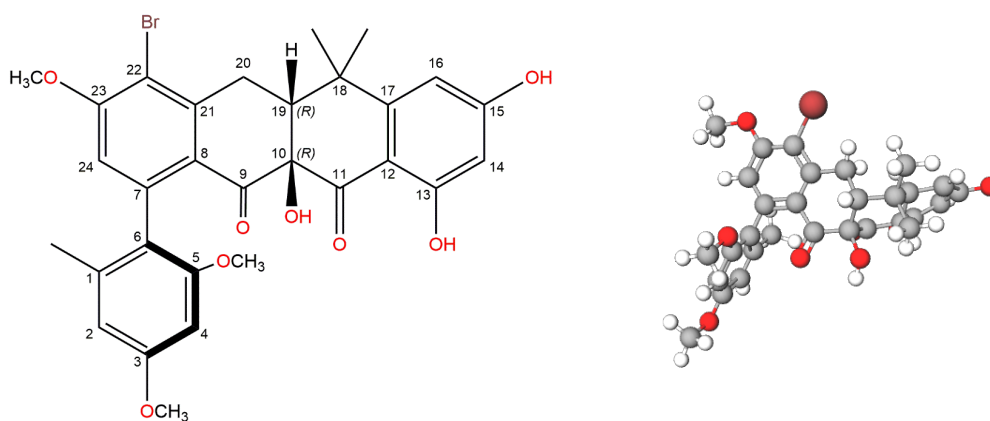
Imagens geradas no ChemDraw Professional 17.1 e Molview, respectivamente.

**Figura A12** - Estruturas moleculares 2D (esquerda) e 3D (direita) da formicamicina L.



Imagens geradas no ChemDraw Professional 17.1 e Molview, respectivamente.

**Figura A13** - Estruturas moleculares 2D (esquerda) e 3D (direita) da formicamicina M.



Imagens geradas no ChemDraw Professional 17.1 e Molview, respectivamente.

## APÊNDICE B – Detalhes sobre os resultados da modelagem molecular.

**Tabela A1** - Dados dos modelos obtidos na modelagem molecular.

| Número do modelo | Fator de coagulação VII<br>(PDB ID do molde: 4JZF) |                            | Metaloproteinase de matriz 3 (PDB<br>ID do molde: 1HY7) |                            | Receptor de fator de crescimento<br>semelhante à insulina tipo 1<br>(PDB ID do molde: 2OJ9) |                            | Receptor nuclear subfamília 1,<br>grupo I membro 2<br>(PDB ID do molde: 4X1F) |                            |
|------------------|----------------------------------------------------|----------------------------|---------------------------------------------------------|----------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|
|                  | Escore DOPE                                        | Escore DOPE<br>normalizado | Escore DOPE                                             | Escore DOPE<br>normalizado | Escore DOPE                                                                                 | Escore DOPE<br>normalizado | Escore DOPE                                                                   | Escore DOPE<br>normalizado |
| 1                | -29341,41992                                       | -1,33932                   | -17752,21484                                            | -1,16342                   | -33429,80469                                                                                | -0,74862                   | -35749,47266                                                                  | -0,75214                   |
| 2                | -29362,34375                                       | -1,34515                   | -17821,45508                                            | -1,19177                   | -33899,52344                                                                                | -0,85698                   | -35500,83203                                                                  | -0,69642                   |
| 3                | -29355,14648                                       | -1,34314                   | -17561,86523                                            | -1,08550                   | -33923,80078                                                                                | -0,86258                   | -35704,93750                                                                  | -0,74216                   |
| 4                | -29679,15234                                       | -1,43349                   | -17782,02539                                            | -1,17563                   | -33592,05469                                                                                | -0,78605                   | -35982,54688                                                                  | -0,80438                   |
| 5                | -29477,07617                                       | -1,37714                   | -17907,21875                                            | -1,22688                   | -33688,41406                                                                                | -0,80828                   | -36534,62891                                                                  | -0,92811                   |
| 6                | -29767,17578                                       | -1,45803                   | -18115,24023                                            | -1,31204                   | -33873,12891                                                                                | -0,85089                   | -36032,76172                                                                  | -0,81564                   |
| 7                | -29642,52539                                       | -1,42327                   | -17826,34180                                            | -1,19377                   | -33713,66406                                                                                | -0,81410                   | -36084,53906                                                                  | -0,82724                   |
| 8                | -29331,87695                                       | -1,33666                   | -17919,62305                                            | -1,23196                   | -33522,94922                                                                                | -0,77011                   | -35733,90234                                                                  | -0,74866                   |
| 9                | -29496,84766                                       | -1,38265                   | -18056,93359                                            | -1,28817                   | -33409,49609                                                                                | -0,74394                   | -36018,78516                                                                  | -0,81250                   |
| 10               | -29215,38281                                       | -1,30418                   | -17934,64453                                            | -1,23811                   | -33615,64844                                                                                | -0,79149                   | -35476,58594                                                                  | -0,69099                   |
| 11               | -29509,91797                                       | -1,38630                   | -17836,55469                                            | -1,19795                   | -33488,54688                                                                                | -0,76217                   | -36121,97266                                                                  | -0,83563                   |
| 12               | -29680,77148                                       | -1,43394                   | -17843,99219                                            | -1,20099                   | -33708,41406                                                                                | -0,81289                   | -36016,79688                                                                  | -0,81206                   |
| 13               | -29699,08984                                       | -1,43904                   | -18171,44141                                            | -1,33504                   | -33891,80859                                                                                | -0,85520                   | -35862,49219                                                                  | -0,77747                   |
| 14               | -29447,79102                                       | -1,36898                   | -17705,12695                                            | -1,14415                   | -33867,19922                                                                                | -0,84952                   | -35341,48438                                                                  | -0,66071                   |
| 15               | -29418,81445                                       | -1,36090                   | -17980,64062                                            | -1,25694                   | -33830,40234                                                                                | -0,84103                   | -36031,22266                                                                  | -0,81529                   |
| 16               | -29515,44531                                       | -1,38784                   | -17962,04883                                            | -1,24932                   | -33817,79297                                                                                | -0,83813                   | -36103,80078                                                                  | -0,83156                   |
| 17               | -29569,04492                                       | -1,40278                   | -17971,12500                                            | -1,25304                   | -33661,74609                                                                                | -0,80213                   | -35969,88281                                                                  | -0,80154                   |

| Número do modelo | Fator de coagulação VII<br>(PDB ID do molde: 4JZF) |                         | Metaloproteinase de matriz 3 (PDB ID do molde: 1HY7) |                         | Receptor de fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1<br>(PDB ID do molde: 2OJ9) |                         | Receptor nuclear subfamília 1, grupo I membro 2<br>(PDB ID do molde: 4X1F) |                         |
|------------------|----------------------------------------------------|-------------------------|------------------------------------------------------|-------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|----------------------------------------------------------------------------|-------------------------|
|                  | Escore DOPE                                        | Escore DOPE normalizado | Escore DOPE                                          | Escore DOPE normalizado | Escore DOPE                                                                              | Escore DOPE normalizado | Escore DOPE                                                                | Escore DOPE normalizado |
| 18               | -29569,74609                                       | -1,40298                | -17966,24219                                         | -1,25104                | -33690,77734                                                                             | -0,80882                | -36004,66797                                                               | -0,80934                |
| 19               | -29045,14648                                       | -1,25671                | -17800,68164                                         | -1,18326                | -33971,38281                                                                             | -0,87356                | -35914,16016                                                               | -0,78905                |
| 20               | -29423,23438                                       | -1,36213                | -17990,36328                                         | -1,26092                | -33622,41797                                                                             | -0,79305                | -36045,12109                                                               | -0,81841                |

**Tabela A2** - Qualidade dos melhores modelos obtidos na modelagem molecular.

| Nome do alvo                                                  | Molde | Modelo | Rôtameros (%) |             | Ramachandran (%) |             | Desvios C $\beta$ >0,25Å (%) | Ligações ruins (%) | Ângulos ruins (%) | Peptídeos ômega  |
|---------------------------------------------------------------|-------|--------|---------------|-------------|------------------|-------------|------------------------------|--------------------|-------------------|------------------|
|                                                               |       |        | Fracos        | Favorecidos | <i>Outliers</i>  | Favorecidos |                              |                    |                   | Prolinas Cis (%) |
| Fator de coagulação VII                                       | 4JZF  | 6      | 4,63          | 85,65       | 0,4              | 98,41       | 3,49                         | 0                  | 1,48              | 7,14             |
| Metaloproteinase de matriz 3                                  | 1HY7  | 13     | 1,36          | 89,8        | 2,34             | 92,98       | 1,88                         | 0,21               | 2,62              | 0                |
| Receptor de fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 | 2OJ9  | 19     | 6,72          | 80,22       | 1,31             | 95,08       | 3,15                         | 0                  | 1,39              | 6,67             |
| Receptor nuclear subfamília 1, grupo I membro 2               | 4X1F  | 5      | 5,02          | 84,59       | 0,96             | 95,22       | 2,7                          | -                  | -                 | 0                |

C $\beta$ , carbono  $\beta$ . **Metas:** rotâmeros fracos: <0,3%; rotâmeros favorecidos: > 98%; *outliers* no Ramachandran: <0,05%; favorecidos no Ramachandran: > 98%; desvios C $\beta$  > 0,25Å: 0%; ligações ruins: 0%; ângulos ruins: <0,1%; prolinas Cis (esperado):  $\leq 1$  por cadeia ou  $\leq 5\%$ .

### **APÊNDICE C – Detalhes sobre os resultados da dinâmica molecular.**

Três simulações de dinâmica molecular ainda estão em progresso resultando na impossibilidade de discussão para três alvos moleculares: cGMP-específico da fosfodiesterase tipo 5 (PDB ID 2CHM), proteína de choque térmico 90  $\alpha$  (PDB ID 3B27) e proteína tirosina fosfatase não receptora tipo 1 (PDB ID 2F71). As simulações com os ligantes cristalográficos de 3B27 (B2T) e 2F71 (UN7) não foram realizadas devido a um erro durante uma das etapas da dinâmica que ainda não foi solucionado. Enquanto 2CHM foi simulado com a formicamicina C provinda do Autodock Vina, mas sua interação obteve um  $\Delta G$  positivo, sugerindo que esta reação não ocorre espontaneamente, mas a formicamicina B do Autodock não obteve tal resultado. Essa discrepância nos fez refazer tal simulação e consequente cálculo de energia.

## 9. CURRÍCULO LATTES

### Bruna Schuck de Azevedo

Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/0174291855948164>

ID Lattes: **0174291855948164**

Última atualização do currículo em 13/07/2020

Farmacêutica formada pela Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA) em 2018. Atualmente é mestranda e bolsista CAPES no Programa de Pós-Graduação em Biociências da UFCSPA. Em 2014, foi bolsista do CNPq em intercâmbio pelo programa Ciência sem Fronteiras no Reino Unido, onde atuou em pesquisas na área de Molecular Pharmacology, na School of Pharmacy da University of East Anglia. Tem experiência nas áreas de farmacologia molecular e biofísica molecular computacional (bioinformática estrutural, triagem virtual reversa, modelagem, docagem e dinâmica molecular), com ênfase na descoberta e desenvolvimento de novos fármacos; pesquisa clínica, incluindo ensaios clínicos de fase II e III de medicações para o tratamento da anemia, diabetes e doença renal crônica; e farmácia clínica, com foco em pacientes transplantados renais. (Texto informado pela autora)

### Identificação

|                                        |                                                                                             |
|----------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Nome</b>                            | Bruna Schuck de Azevedo                                                                     |
| <b>Nome em citações bibliográficas</b> | AZEVEDO, B. S.; SCHUCK, B.                                                                  |
| <b>Lattes ID</b>                       | <a href="http://lattes.cnpq.br/0174291855948164">http://lattes.cnpq.br/0174291855948164</a> |
| <b>Orcid ID</b>                        | <a href="https://orcid.org/0000-0002-8638-3844">https://orcid.org/0000-0002-8638-3844</a>   |

### Formação acadêmica/titulação

|                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|--------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>08/2018 - Atual</b>   | Mestrado em andamento em Biociências (Conceito CAPES 4).<br>Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, UFCSPA, Brasil.<br>Orientador: Rafael Andrade Caceres.<br>Bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).                                                                                                                                     |
| <b>03/2012 - 08/2018</b> | Graduação em Farmácia.<br>Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, UFCSPA, Brasil.<br>Com <b>período sanduíche</b> em University of East Anglia (Orientadora: Anja Mueller).<br>Bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).<br>Título: Em busca de alvos moleculares: o caso da família formicamicina.<br>Orientador: Rafael Andrade Caceres. |

### Formação complementar

|                    |                                                                                                                                                                                      |
|--------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>2019 - 2019</b> | Introdução à Biologia de Sistemas e Análise de Redes. (Carga horária: 15h).<br>Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Brasil.                                             |
| <b>2019 - 2019</b> | Cuidado Farmacêutico em Farmácias Comunitárias. (Carga horária: 96h).<br>Conselho Federal de Farmácia, CFF, Brasil.                                                                  |
| <b>2019 - 2019</b> | PICCAP - Farmácia Clínica Transplante Renal - Módulo I (Carga horária: 480h).<br>Hospital de Clínicas de Porto Alegre, HCPA, Brasil.                                                 |
| <b>2018 - 2018</b> | Curso EAD de Acidentes Tóxicos por Animais Peçonhentos - 3ª edição. (Carga horária: 60h).<br>Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Brasil.                               |
| <b>2018 - 2018</b> | Good Clinical Practices (Carga horária: 6h).<br>NIDA Clinical Trials Network, NIDA CTN, Estados Unidos.                                                                              |
| <b>2018 - 2018</b> | Aspectos Práticos da Triagem Virtual em Larga Escala e Desenho Racional de Fármacos (Carga horária: 6h).<br>Laboratório Nacional de Computação Científica, LNCC, Petrópolis, Brasil. |
| <b>2018 - 2018</b> | Simulação de Proteínas em Biomembranas (Carga horária: 6h).<br>Laboratório Nacional de Computação Científica, LNCC, Petrópolis, Brasil.                                              |

|                    |                                                                                                                                                                                                              |
|--------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>2018 - 2018</b> | Transporting Dangerous Goods (Carga horária: 1h).<br>Mayo Medical Laboratories, MAYO, Estados Unidos.                                                                                                        |
| <b>2017 - 2017</b> | III Alternative in Vitro Assays for Toxicity Testing of Drugs (Carga horária: 7h).<br>International Congress of Pharmaceutical Sciences, CIFARP, Brasil.                                                     |
| <b>2017 - 2017</b> | II Nanobiotechnology: New Strategies for Producing Innovative Medicines (Carga horária: 6h).<br>International Congress of Pharmaceutical Sciences, CIFARP, Brasil.                                           |
| <b>2015 - 2015</b> | Transporting Dangerous Goods (Carga horária: 1h).<br>Mayo Medical Laboratories, MAYO, Estados Unidos.                                                                                                        |
| <b>2015 - 2015</b> | Good Clinical Practices (Carga horária: 6h).<br>NIDA Clinical Trials Network, Estados Unidos.                                                                                                                |
| <b>2014 - 2014</b> | Epigenetics (Carga horária: 70h).<br>University of East Anglia, UEA, Norwich, Inglaterra.                                                                                                                    |
| <b>2014 - 2014</b> | Towards personalised medicine (Carga horária: 70h).<br>University of East Anglia, UEA, Norwich, Inglaterra.                                                                                                  |
| <b>2013 - 2013</b> | Projeto Farmacêutico na Praça (Carga horária: 8h).<br>Conselho Regional de Farmácia do Rio Grande do Sul, CRFRS, Porto Alegre, Brasil.                                                                       |
| <b>2013 - 2013</b> | Curso de Capacitação - Projeto Farmacêutico na Praça (Carga horária: 3h).<br>Conselho Regional de Farmácia do Rio Grande do Sul, CRFRS, Porto Alegre, Brasil.                                                |
| <b>2013 - 2013</b> | Extensão universitária em Módulo de Primeiros Socorros da Liga do Trauma da UFCSPA (Carga horária: 8h).<br>Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, UFCSPA, Porto Alegre, Brasil. |
| <b>2013 - 2013</b> | Extensão universitária em Introdução à fotografia (Carga horária: 20h).<br>Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, UFCSPA, Porto Alegre, Brasil.                                 |
| <b>2012 - 2013</b> | Extensão universitária em Feira de Saúde (Carga horária: 16h).<br>Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, UFCSPA, Porto Alegre, Brasil.                                          |

## Atuação profissional

### 1. Centro de Pesquisa Clínica, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Brasil

#### Vínculo institucional

|                          |                                                                                                               |
|--------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>01/2019 - 04/2019</b> | Vínculo: Bolsista, Enquadramento funcional: Pesquisadora farmacêutica, Carga horária: 20h                     |
| <b>08/2018 – 12/2018</b> | Vínculo: Bolsista, Enquadramento funcional: Pesquisadora farmacêutica, Carga horária: 30h                     |
| <b>04/2018 - 08/2018</b> | Vínculo: Bolsista, Enquadramento Funcional: Assistente de Pesquisa Clínica, Carga horária: 30h                |
| <b>10/2015 - 04/2016</b> | Vínculo: Bolsista, Enquadramento Funcional: Estagiária no Grupo de Pesquisa em Nefrologia, Carga horária: 20h |

#### Atividades

|                          |                                                         |
|--------------------------|---------------------------------------------------------|
| <b>04/2018 - 04/2019</b> | Pesquisa e Desenvolvimento, Centro de Pesquisa Clínica. |
|--------------------------|---------------------------------------------------------|

#### Linhas de pesquisa:

Novos fármacos, Pacientes pré-dialíticos, Pacientes dialíticos, Anemia, Diabetes, Doença Renal Crônica, Nefrologia

### 2. Centro de Biotecnologia (CBiot) - UFRGS

#### Vínculo institucional

|                          |                                                                                      |
|--------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>11/2017 - 04/2018</b> | Vínculo: Estágio Curricular, Enquadramento Funcional: Estagiária, Carga horária: 25h |
|--------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|

#### Atividades

Estágios, Centro de Biotecnologia - UFRGS - RS - Brasil.

#### Estágio realizado

Local: Laboratório de Biologia Molecular de Fungos de Importância Médica e Biotecnológica.

### 3. Laboratório de Toxicologia (LATOX) - Faculdade de Farmácia, UFRGS

#### Vínculo institucional

**07/2017 - 11/2017** Vínculo: Estágio Curricular, Enquadramento Funcional: Estagiária, Carga horária: 25h

#### Atividades

Estágios, Laboratório de Toxicologia - Faculdade de Farmácia, UFRGS - RS - Brasil.

Estágio realizado

Ensaio de toxicidade aguda e crônica com *C. elegans*.

### 4. DIMED S/A – Panvel Filial 192

#### Vínculo institucional

**05/2017- 07/2017** Vínculo: Estágio curricular, Enquadramento Funcional: Estagiária, Carga horária: 30h

**Outras informações** PanVel - Filial 192

### 5. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA/RS

#### Vínculo institucional

**10/2016 - 04/2017** Vínculo: Bolsista, Enquadramento Funcional: Estagiária no SEFIP – Produtos Veterinários, Carga horária: 30h

#### Atividades

Estágios, Superintendência Federal de Agricultura, Pecuária e Abastecimento - RS.

Estágio realizado

Serviço de Fiscalização de Insumos Pecuários (SEFIP) - Produtos Veterinários.

### 6. Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA), Brasil

#### Vínculo institucional

**2017 - 2018** Vínculo: Iniciação Científica, Enquadramento Funcional: Voluntária

**2015 - 2016** Vínculo: Iniciação Científica, Enquadramento Funcional: Bolsista - FAPERGS, Carga horária: 20h

**2013 - 2013** Vínculo: Iniciação Científica, Enquadramento Funcional: Voluntária

#### Atividades

**08/2015 - 04/2018** Pesquisa e Desenvolvimento, Departamento de Farmacologia e Toxicologia

Linhas de pesquisa:

Tuberculose, Novos fármacos, *Mycobacterium tuberculosis*, Novos inibidores seletivos, Purina nucleosídeo fosforilase

### 7. University of East Anglia, UEA, Inglaterra

#### Vínculo institucional

**2014 - 2014** Vínculo: Bolsista, Enquadramento Funcional: Undergraduate

### 8. Prefeitura Municipal de Porto Alegre - P/PORTO ALEGRE

#### Vínculo institucional

**07/2012 - 03/2013** Vínculo: Estágio, Enquadramento Funcional: Estagiária na Farmácia Distrital Camaquã, Carga horária: 20h

#### Atividades

Estágios, Secretaria Municipal de Saúde e Serviço Social de Porto Alegre.

Estágio realizado

Farmácia Distrital.

## Projetos de pesquisa

**2018 - 2019** AKB-6548-CI-0014 (PROTECT CORREÇÃO)

**Descrição:** Estudo de fase 3 randomizado, aberto e controlado por agente ativo para avaliar a eficácia e segurança do vadadustate oral para correção da anemia em participantes com doença renal crônica não dependente de diálise (DRC-NDD).

**Situação:** Concluído; Natureza: Pesquisa.

Integrantes: Bruna Schuck de Azevedo - Integrante / Francisco José Veríssimo Veronese - Coordenador / Bianca Paula Mentz Chiella – Integrante.

**2018 - 2019** AKB-6548-CI-0015 (PRO<sub>2</sub>TECT CONVERSÃO)

**Descrição:** Estudo de fase 3, randomizado, em caráter aberto e com controle ativo avaliando a eficácia e segurança do vadadustate oral para o tratamento de manutenção de anemia em participantes com doença renal crônica não dependente de diálise (NDD-CKD).

**Situação:** Concluído; Natureza: Pesquisa.

Integrantes: Bruna Schuck de Azevedo - Integrante / Francisco José Veríssimo Veronese - Coordenador / Bianca Paula Mentz Chiella – Integrante.

**2018 - 2019** AKB-6548-CI-0016 (INNO<sub>2</sub>VATE CORREÇÃO)

**Descrição:** Estudo de fase 3, randomizado, aberto e controlado por agente ativo para avaliar a eficácia e a segurança de vadadustate oral para a correção de anemia em participantes com doença renal crônica incidente dependente de diálise (DRC-DD).

**Situação:** Concluído; Natureza: Pesquisa.

Integrantes: Bruna Schuck de Azevedo - Integrante / Francisco José Veríssimo Veronese - Coordenador / Bianca Paula Mentz Chiella – Integrante.

**2018 - 2019** AKB-6548-CI-0017 (INNO<sub>2</sub>VATE CONVERSÃO)

**Descrição:** Estudo de fase 3, randomizado, aberto e controlado por agente ativo para avaliar a eficácia e a segurança de vadadustate oral para o tratamento de manutenção de anemia em participantes com doença renal crônica dependente de diálise (DRC-DD).

**Situação:** Concluído; Natureza: Pesquisa.

Integrantes: Bruna Schuck de Azevedo - Integrante / Francisco José Veríssimo Veronese - Coordenador / Bianca Paula Mentz Chiella – Integrante.

**2018 - 2019** ASCEND-D (200807)

**Descrição:** Um estudo Fase 3, randomizado, aberto (cego para o Patrocinador), controlado por ativo, de grupos paralelos, multicêntrico, direcionado por evento em pacientes com anemia associada à doença renal crônica que estão em diálise para avaliar a segurança e a eficácia do daprodustate comparado à eritropoetina humana recombinante, após mudança de agentes estimulantes de eritropoietina.

**Situação:** Concluído; Natureza: Pesquisa.

Integrantes: Bruna Schuck de Azevedo - Integrante / Bianca Paula Mentz Chiella - Integrante / Carlos Alberto Prompt – Coordenador.

**2018 - 2019** ASCEND-ND (200808)

**Descrição:** Um estudo Fase 3, randomizado, aberto (cego para o Patrocinador), controlado por ativo, de grupos paralelos, multicêntrico, direcionado por evento em pacientes com anemia associada à doença renal crônica que não estão em diálise para avaliar a segurança e eficácia do daprodustate comparado à alfa darbepoetina.

**Situação:** Concluído; Natureza: Pesquisa.

Integrantes: Bruna Schuck de Azevedo - Integrante / Bianca Paula Mentz Chiella - Integrante / Carlos Alberto Prompt - Coordenador.

**2018 - 2019** Dapa-CKD (D169AC00001)

**Descrição:** Estudo para Avaliar o Efeito de Dapagliflozina nos Desfechos Renais e Mortalidade Cardiovascular em Participantes da Pesquisa com Doença Renal Crônica.

**Situação:** Concluído; Natureza: Pesquisa.

Integrantes: Bruna Schuck de Azevedo - Integrante / Bianca Paula Mentz Chiella - Integrante / Elvino Guardão Barros – Coordenador.

**2018 - 2019** Himalaya (FGCL-4592-063)

**2015 - 2016**

**Descrição:** Estudo de fase 3 multicêntrico, randomizado, aberto e com controle ativo da eficácia e segurança do FG-4592 no tratamento de anemia em pacientes incidentes em diálise.

**Situação:** Concluído; Natureza: Pesquisa.

Integrantes: Bruna Schuck de Azevedo - Integrante / Francisco José Veríssimo Veronese - Coordenador / Bianca Paula Mentz Chiella – Integrante.

**2018 - 2018** Olympus (D5740C0001)

**2015 - 2016**

**Descrição:** Estudo de Fase 3, Multicêntrico, Randomizado, Duplo-Cego, Controlado por Placebo que Avalia a Segurança e a Eficácia de Roxadustat para o Tratamento de Anemia em Participantes da pesquisa com Doença Renal Crônica que Não Recebem Diálise.

**Situação:** Concluído; Natureza: Pesquisa.

Integrantes: Bruna Schuck de Azevedo - Integrante / Bianca Paula Mentz Chiella - Integrante / Elvino Guardão Barros – Coordenador.

**2017 - 2018** Em busca de alvos moleculares: o caso da família formicamicina

**Situação:** Concluído; Natureza: Pesquisa.

Integrantes: Bruna Schuck de Azevedo - Coordenadora / Rafael Andrade Caceres – Integrante.

**2015 - 2018** Estudos estruturais e planejamento de novos inibidores seletivos para a enzima purina nucleosídeo fosforilase (E.C. 2.4.2.1) de *Mycobacterium tuberculosis*

**Situação:** Concluído; Natureza: Pesquisa.

Integrantes: Bruna Schuck de Azevedo - Integrante / Rafael Andrade Caceres – Coordenador.

**2015 - 2016** CREDENCE (28431754DNE3001)

**Descrição:** Estudo multicêntrico, randomizado, duplo-cego, orientado por eventos, controlado por placebo, dos efeitos da canagliflozina nos resultados renais e cardiovasculares em sujeitos com diabetes mellitus tipo 2 e nefropatia diabética.

**Situação:** Concluído; Natureza: Pesquisa.

Integrantes: Bruna Schuck de Azevedo - Integrante / Bianca Paula Mentz Chiella - Integrante / Fernando Saldanha Thomé – Coordenador.

**2015 - 2016** H9X-MC-GBDX

**Descrição:** Estudo randomizado aberto de grupos paralelos para comparar o efeito da dulaglutida uma vez por semana com a insulina glargina no controle glicêmico de pacientes com diabetes do tipo 2 e doença renal crônica moderada ou grave.

**Situação:** Concluído; Natureza: Pesquisa.

Integrantes: Bruna Schuck de Azevedo - Integrante / Bianca Paula Mentz Chiella - Integrante / Fernando Saldanha Thomé – Coordenador.

**2015 - 2016** SONAR (M11-352)

**Descrição:** Um Estudo Randomizado, Multinacional, Multicêntrico, Duplo-Cego, com Grupos Paralelos e Controlado por Placebo dos Efeitos de Atrasentana sobre Desfechos Renais em Sujeitos de Pesquisa com Diabetes Tipo 2 e Nefropatia SONAR: Estudo da Nefropatia Diabética Tratada com Atrasentana.

**Situação:** Concluído; Natureza: Pesquisa.

Integrantes: Bruna Schuck de Azevedo - Integrante / Bianca Paula Mentz Chiella - Integrante / Carlos Alberto Prompt – Coordenador.

**2014 - 2014** CCR5 and CXCR4 mediated signalling in cells

**Descrição:** The chemokine receptors CCR5 and CXCR4 act as co-receptor for the HIV virus and have also been implicated in migration of cancerous cells. Our main interest lies in understanding the signal transduction induced by these receptors. It is well known that chemokine receptor activation leads to an increase in the release of intracellular calcium and ultimately cell migration. We want to investigate how these receptors can activate cell migration and determine which signalling networks are involved in this. We will evaluate the effect dynamin activation has on cell migration and whether the two different receptor CCR5 and CXCR4 are regulated in a similar manner.

**Situação:** Concluído; Natureza: Pesquisa.

Integrantes: Bruna Schuck de Azevedo - Integrante / Anja Mueller – Coordenadora.

- 2013 - 2014** Caracterização morfoanatômica e histoquímica de espécies do gênero *Opuntia* Mill. (Cactaceae) no Rio Grande do Sul
- Descrição:** As espécies do gênero *Opuntia* Mill. (Cactaceae) no Brasil, assim como em outras partes do mundo, são adaptadas a ambientes extremamente quentes e/ou áridos. O caule é suculento e achatado, com formato segmentado, denominado filocládio. As folhas são reduzidas e modificadas em espinhos, distribuídas de forma densa ou esparsa. Com cerca de 300 espécies no continente americano, quatro delas são reconhecidas como nativas no Brasil, *Opuntia elata* Salm-Dyck, *O. megapotamica* Arechav., *O. monacantha* Haw. e *O. retrorsa* Speg. sendo as três primeiras naturais no Rio Grande do Sul. A despeito do Estado apresentar uma grande concentração de espécies de cactáceas, as informações sobre as mesmas são ainda deficientes. Dentre as dificuldades inerentes à família está a complexidade taxonômica do gênero. Embora alguns especialistas reconheçam a ocorrência de três espécies como nativas no Estado, a taxonomia do grupo ainda necessita de esclarecimentos. Economicamente as espécies de *Opuntia* são utilizadas para vários fins, correspondendo a um recurso agropecuário muito importante, na forma de produto alimentício. Para fins medicinais, são usadas como sedativo, adstringente, antitussígeno, antidiarreico e antidisentérico. O presente estudo objetiva caracterizar a morfoanatomia dos cladódios e frutos de espécies de *Opuntia* (*O. elata*, *O. megapotamica* e *O. monacantha*), visando contribuir com uma possível ferramenta útil para a taxonomia e para estudos sobre composição química. O material é preparado em lâminas histológicas e analisado em microscópio óptico, com auxílio de câmara-clara. Estão sendo realizados testes histoquímicos, para a identificação de metabólitos, assim como descrições morfoanatômicas e ilustrações, para cada espécie estudada, visando uma posterior publicação dos dados.
- Situação:** Concluído; Natureza: Pesquisa.
- Alunos envolvidos: Graduação: (1).
- Integrantes: Bruna Schuck de Azevedo - Integrante / Marcia Vignoli da Silva - Coordenadora.

## Idiomas

|                  |                                                                                       |
|------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Inglês</b>    | Compreende Bem, Fala Bem, Escreve Bem, Lê Bem                                         |
| <b>Espanhol</b>  | Compreende Razoavelmente, Fala Razoavelmente, Escreve Razoavelmente, Lê Razoavelmente |
| <b>Italiano</b>  | Compreende Razoavelmente, Fala Razoavelmente, Escreve Pouco, Lê Razoavelmente         |
| <b>Português</b> | Compreende Bem, Fala Bem, Escreve Bem, Lê Bem                                         |
| <b>Alemão</b>    | Compreende Pouco, Lê Pouco.                                                           |

## Prêmios e títulos

- 2018** Mérito Acadêmico, Conselho Regional de Farmácia do Rio Grande do Sul (CRF-RS)
- 2014** Fundraising - World's Biggest Coffee Morning, Macmillan Cancer Support

## Produção

### Produção bibliográfica

#### Capítulos de livros publicados

- AZEVEDO, B. S.;** CACERES, R.A. ; TIMMERS, L. F. S. M. ; POSSAMAI, L. M. . Biologia estrutural. In: Scheila de Avila e Silva; Daniel Luis Notari; Gabriel Dall' Alba. (Org.). Bioinformática: Contexto Computacional e Aplicações. 1ed.Caxias do Sul: EDUCS, 2020, v. , p. 209-221.

#### Resumos publicados em anais de congressos

- AZEVEDO, B. S.;** CACERES, R.A. . Identificação de potenciais alvos moleculares relacionados ao câncer para as moléculas da família formicamicina. In: Congresso UFCSPA: conectando saúde e sociedade, 2019, Porto Alegre. Anais do Congresso UFCSPA: conectando saúde e sociedade, 2019.
- SCHUCK, B.;** CACERES, R.A. . Em busca de alvos moleculares: o caso da família formicamicina. In: 38ª Semana Científica do HCPA, 2018, Porto Alegre. 38ª Semana Científica do HCPA: Tecnologias disruptivas em saúde, 2018. v. 38. p. 16-16.

3. VIGNOLI-SILVA, M.; **AZEVEDO, B. S.**; FERNANDES, F. S.  
Caracterização morfoanatômica e histoquímica dos filocládios de *Opuntia* CF. *megapotamica* Arechav. (*Cactaceae*) no Rio Grande do Sul. In: XI Congresso Latinoamericano de Botânica, 2014, Salvador.  
**Anais do XI Congresso Latinoamericano de Botânica.** São Paulo: SBB, 2014. v. 1. p. 1 - 2.

#### **Apresentação de trabalho e palestra**

1. **SCHUCK, B.**; CACERES, R.A. . Identificação de potenciais alvos moleculares relacionados ao câncer para as moléculas da família formicamicina. 2019. (Apresentação de Trabalho/Congresso).
2. **SCHUCK, B.**; CACERES, R.A. . Identification of potential molecular targets related to cancer for the formicamycin's family. 2019. (Apresentação de Trabalho/Outra).
3. **SCHUCK, B.**; CACERES, R.A. . Em busca de alvos moleculares: o caso da família formicamicina. 2018. (Apresentação de Trabalho/Outra).
4. **SCHUCK, B.**; CACERES, R.A. . Em busca de alvos moleculares: o caso da família formicamicina. 2018. (Apresentação de Trabalho/Outra).
5. **SCHUCK, B.**; CACERES, R.A.; CACERES ANDRADE, R; CACERES, RAFAEL A  
Estudos estruturais e planejamento de novos inibidores seletivos para a enzima purina nucleosídeo fosforilase (E.C. 2.4.2.1) de *Mycobacterium tuberculosis*, 2016. (Apresentação de Trabalho)
6. FERNANDES, F. S.; **AZEVEDO, B. S.**; VIGNOLI-SILVA, M.  
Caracterização morfoanatômica e histoquímica dos filocládios de *Opuntia* CF. *megapotamica* Arechav. (*Cactaceae*) no Rio Grande do Sul, 2014. (Apresentação de Trabalho)

## **Bancas**

### **Participação em bancas de comissões julgadoras**

#### **Outras participações**

1. **SCHUCK, B.**. VI MULTITEC - Multifeira de Iniciação Científica. 2019. Escola Estadual Técnica Affonso Wolf.

## **Eventos**

### **Participação em eventos, congressos, exposições e feiras**

1. Congresso UFCSPA: conectando saúde e sociedade. Identificação de potenciais alvos moleculares relacionados ao câncer para as moléculas da família formicamicina. 2019. (Congresso).
2. Congresso UFCSPA: conectando saúde e sociedade. 2019. (Congresso).
3. Escola Gaúcha de Bioinformática - EGB 2019. 2019. (Outra).
4. IV Encontro do PPG Biociências. 2019. (Outra).
5. IV Encontro do PPG Biociências. Identification of potential molecular targets related to cancer for the formicamycin's family. 2019. (Outra).
6. IV Encontro do PPG Biociências. Identification of potential molecular targets related to cancer for the formicamycin's family. 2019. (Outra).
7. 38ª Semana Científica do HCPA. 2018. (Outra).
8. 38ª Semana Científica do HCPA. Em busca de alvos moleculares: o caso da família formicamicina. 2018. (Outra).
9. III Encontro do PPG Biociências & Encontro de Pesquisa em Biologia Celular. 2018. (Encontro).
10. III Encontro do PPG Biociências & Encontro de Pesquisa em Biologia Celular. Em busca de alvos moleculares: o caso da família formicamicina. 2018. (Encontro).
11. IV Mostra de Trabalhos de Ensino, Pesquisa e Extensão da UFCSPA. Em busca de alvos moleculares: o caso da família formicamicina. 2018. (Outra).
12. IX Escola de Modelagem Molecular em Sistemas Biológicos. 2018. (Outra).  
Em busca de alvos moleculares: o caso da família formicamicina.
13. IX Escola de Modelagem Molecular em Sistemas Biológicos. Em busca de alvos moleculares: o caso da família formicamicina. 2018. (Outra).
14. 11th International Congress of Pharmaceutical Sciences. 2017. (Congresso).
15. II Jornada Acadêmica da Farmácia. 2017. (Outra).
16. 21st International Chromosome Conference. 2016. (Outra).
17. II Mostra de trabalhos de Ensino, Pesquisa e Extensão da UFCSPA. 2016. (Outra).
18. II Mostra de Trabalhos de Ensino, Pesquisa e Extensão da UFCSPA. Estudos estruturais e planejamento de novos inibidores seletivos para a enzima purina nucleosídeo fosforilase (E.C. 2.4.2.1) de *Mycobacterium tuberculosis*. 2016. (Outra).
20. I Jornada Acadêmica da Farmácia. 2016. (Outra).

21. II Workshop em Toxicologia Clínico-Laboratorial: Atividades do Perito Toxicologista. 2015. (Outra).
22. I Jornada Acadêmica do curso de Toxicologia Analítica da UFCSPA. 2015. (Outra).
23. I Mostra de trabalhos de Ensino, Pesquisa e Extensão da UFCSPA. 2015. (Outra).
24. International Symposium of Innovation in Human Movement Analysis - from basic research to clinical practice. 2015. (Simpósio).
25. 2nd Eastern Area Conference on Pain. 2014. (Outra).
26. II Semana Acadêmica da UFCSPA. 2013. (Outra).
27. I Seminário de Integração Permanente Ensino e Serviço DDA-UFCSPA e I Mostra de Trabalhos Realizados no DDA-UFCSPA. 2013. (Outra).

**Organização de eventos, congressos, exposições e feiras**

1. BRAGANHOL, E. ; **SCHUCK, B.** . IV Encontro do PPG Biociências. 2019. (Outro).
2. **SCHUCK, B.**; BLATT, C. R. ; PAVEI, C. . III Jornada Acadêmica da Farmácia. 2018. (Outro).
3. BLATT, C. R. ; SOUZA, K. C. B. ; **SCHUCK, B.** ; PAVEI, C. . II Jornada Acadêmica da Farmácia. 2017. (Outro).
4. **SCHUCK, B.**. II Mostra de trabalhos de Ensino, Pesquisa e Extensão da UFCSPA. 2016. (Outro).
5. **SCHUCK, B.**. I Mostra de trabalhos de Ensino, Pesquisa e Extensão da UFCSPA. 2015. (Outro).

## Outras informações relevantes

Representante de turma do Curso de Farmácia da UFCSPA (2015 a 2018);

Representante discente na Comissão de Estágios do Curso de Farmácia da UFCSPA (09/2017 a 07/2018);

Representante discente suplente na Comissão de Graduação do Curso de Farmácia da UFCSPA (05/2015 a 08/2016).