

08 a 11 de Outubro de 2018
Instituto Federal Fluminense
Búzios - RJ

ESTUDO COMPLEMENTAR DE UM COMPLEXO DE COORDENAÇÃO DE COBRE E AVALIAÇÃO DA INTERAÇÃO COM DNA HUMANO IN SILICO

Gabriel Machado Carvalho^{1,2} – gabriel_mcarv@hotmail.com

Lorena Pessanha de Souza Oliveira³ – lorenapessanhaoliveira@gmail.com

Marina Barreto Silva² – marinabarretosilva@hotmail.com

Milton Masahiko Kanashiro² – kmilton@uenf.br

Nelilma Correia Romeiro¹ – nelilmaromeiro@gmail.com

¹ Universidade Federal do Rio de Janeiro, Campus Macaé Professor Aloísio Teixeira – Macaé, RJ, Brasil

² Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - Campos, RJ, Brasil

³ Instituto Federal Fluminense, Campos Centro - Campos, RJ, Brasil

Resumo. O câncer caracteriza-se pela proliferação desordenada de células anormais que apresentam alterações genéticas que lhes conferem a alta capacidade de proliferação e invasão, afetando o funcionamento de tecidos e órgãos. Estudos recentes mostram que o complexo de coordenação denominado *Cu₂* apresenta seletividade e baixa toxicidade, onde, os valores de CE50 de células sadias tratadas com o composto foram superiores aos obtidos para as células tumorais. Nesse contexto, estudos de docking e modelagem molecular são utilizados para otimizar o processo de triagem no desenvolvimentos de novos fármacos. O objetivo desse trabalho foi analisar o efeito do *Cu₂* na viabilidade de células de câncer de mama e simular, in silico, o perfil de interações com o DNA humano utilizando docking molecular. As concentrações de CE50 foram inferidas por método colorimétrico utilizando MTT. As análises de modelagem molecular foram feitas utilizando o Pymol, para visualização e edição das estruturas, e o Hex para o docking molecular. O composto *Cu₂* demonstrou potência, na inviabilidade de células de câncer. Estudos de docking mostraram uma maior interação do *Cu₂* com o sulco menor do DNA, sugerindo que o complexo pode estar atuando negativamente nos processos de transcrição e replicação, ativando vias apoptóticas.

Palavras chave: Câncer, DNA, Fenda menor, Docking, Modelagem molecular

1. INTRODUÇÃO

A inibição do DNA restringiria a síntese ou replicação de proteínas e poderia induzir morte celular (Sheikh et al., 2004). As regiões do DNA envolvidas em processos vitais, como a origem da replicação, a promoção da transcrição, etc., são de particular interesse como alvos para uma ampla gama de medicamentos anticancerígenos e antibióticos (HURLEY, 2002).

As ligações nas fendas do DNA (no sulco maior ou menor) e a intercalação são dois dos tipos de interação mais comuns entre ligantes e o DNA. Nas ligações com as fendas, a molécula é na maioria das vezes flexível, contém ligações rotacionáveis e é capaz de se orientar ao longo do sulco maior ou menor do DNA, inibindo assim sua função regular (BARALDI et al., 2004).

Os tratamentos aplicados aos pacientes com câncer visam sempre à eliminação das células tumorais. Como as células tumorais são próprias do organismo, células normais do paciente também ficam susceptíveis a sofrer com o tratamento. Buscando peculiaridades existentes entre as células tumorais e normais, tem-se percebido que as primeiras proliferam-se muito mais rápido que as segundas, sendo o ciclo celular um dos alvos de tratamento e combate às células tumorais (BRASILEIRO-FILHO, 2006; CASCIATO, 2008).

Os compostos alquilantes substituem um átomo de hidrogênio por um radical alquil. Quando se ligam ao DNA, impedem a separação da dupla fita, fenômeno indispensável para a replicação. Os alquilantes afetam as células em todas as fases do ciclo celular, de modo inespecífico (KOSTOVA, 2006).

Compostos de coordenação são instrumentos chave de outra área da química, a inorgânica medicinal. A química inorgânica medicinal busca explorar as propriedades únicas de íons metálicos para a concepção de novos medicamentos. No desenvolvimento de metalofármacos, as moléculas orgânicas (ligantes) apresentam papel importante, uma vez que podem limitar os efeitos tóxicos dos metais e potencializar suas propriedades terapêuticas. Ligantes sintéticos planejados para a obtenção de compostos de coordenação podem levar à descoberta de novos agentes terapêuticos (STORR et al., 2007; BRUIJNINCX & SADLER, 2008).

Dentre os compostos metálicos com atividade antitumoral, complexos contendo metais endógenos como ferro e cobre, são menos tóxicos ao organismo (ARREDONDO & NÚÑEZ, 2005).

Figueredo (2012) avaliou o potencial de oito complexos de coordenação de cobre e seus respectivos ligantes na redução da viabilidade das células tumorais de origem leucêmica THP1 e U937. Dentre os compostos testados, o complexo $[Cu(L1)Cl]Cl \cdot 2H_2O$, denominado $Cu\alpha$, foi o mais ativo, exibindo um valor de CE50 de 13,85 μM para as células U937 e 11,06 μM para as células THP1, respectivamente. Estes resultados foram duas vezes (para as células U937) e três vezes (para as células THP1) menores que os exibidos pela cisplatina, o complexo de coordenação escolhido como controle positivo (FIGUEREDO, 2012).

Quando os complexos foram testados em células normais do sangue periférico humano (PBMC, do inglês Peripheral Blood Mononuclear Cell), os valores de CE50 foram superiores aos obtidos para as células tumorais, indicando que a concentração necessária dos complexos para reduzir a viabilidade das células tumorais não interfere na viabilidade das células humanas normais, sugerindo uma baixa toxicidade e abrindo perspectivas para a continuidade dos testes.

O mecanismo de morte celular induzido pelo complexo $Cu\alpha$ também foi investigado por Figueredo (2012) em células U937 e THP1, sendo o complexo $Cu\alpha$ capaz de induzir apoptose em ambas as linhagens celulares (FIGUEREDO, 2012).

A proposição de novos derivados funcionais e análogos sintéticos pode ser auxiliada através da modelagem molecular de biomacromoléculas-alvo, em estudos de ligantes baseados na estrutura do bioreceptor (SBDD, do inglês Structure-Based Drug Design). Estudos de docking receptor-ligante (SBDD) são métodos computacionais utilizados para a identificação do modo de ligação de moléculas candidatas a fármacos, no sítio ativo de proteínas consideradas como alvos moleculares para o tratamento de determinadas doenças (MAGALHÃES et al., 2006). Há uma evidência surpreendente de aplicações bem-sucedidas de estudos de docking molecular no desenho de fármacos (MENG et al., 2011; KROEMER, 2007; GEROMICHALOS, 2007; SHOICHET et al. 2002; MA, et al., 2008; CHAN et al., 2010; MA et al., 2011).

Durante o processo de docking, a posição ideal e a orientação do ligante são determinadas usando um algoritmo de busca e uma função de score que classifica as soluções geradas. Os algoritmos de busca investigam um determinado número de conformações de ligantes, explorando todos os graus de liberdade da estrutura, de modo a encontrar o mínimo de energia global; e as funções de score avaliam a qualidade das poses de docking, distinguindo os modos de ligação entre ligante e receptor observados experimentalmente de todas as outras poses exploradas pelo algoritmo de busca. Atualmente, existem diferentes funções de score e diferentes metodologias de busca (GUEDES, 2016).

Os métodos de busca utilizados nos algoritmos de docking podem ser classificados como métodos de busca sistemática, métodos de busca determinística e métodos randômicos. Na busca sistemática, todos os graus de liberdade do ligante são explorados de maneira combinatória durante a busca. Métodos determinísticos produzem uma mesma saída para o mesmo dado de entrada. Já os métodos randômicos produzem diferentes saídas para um dado de entrada (MAGALHÃES et al., 2006).

Métodos baseados no campo de força consideram interações intermoleculares descritas por termos clássicos da mecânica molecular. Métodos empíricos e semi-empíricos se baseiam no ajuste teórico de equações (regressão linear) que reproduzem dados experimentais. Já os métodos baseados no conhecimento utilizam dados estatísticos dos potenciais de pares atômicos de interação, os quais são derivados de conjuntos de dados provenientes de complexos cristalográficos entre ligantes e proteínas (MAGALHÃES et al., 2006).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Simular, *in silico*, o perfil de interações teóricas do $[Cu(L1)Cl]Cl \cdot 2H_2O$ ($Cu\alpha$) com o DNA humano utilizando docking molecular.

2.2 Objetivo Específico

- Definir os modelos de DNA a serem utilizados para as análises de docking;
- Realizar o docking molecular do $Cu\alpha$ mono-hidratado e bis-hidratado, utilizando estruturas do DNA com ligantes do fenda menor;

3. MATERIAL E MÉTODOS

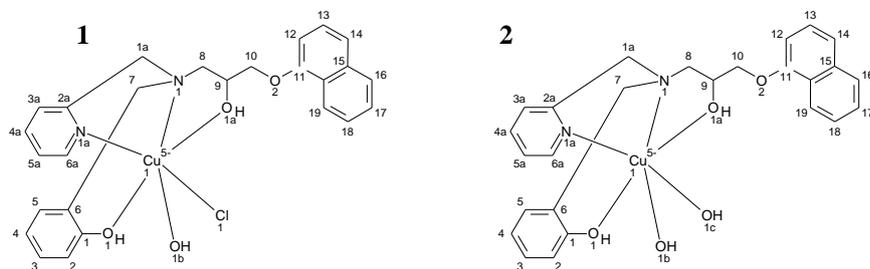
3.1 Obtenção e Preparo das Estruturas de DNA

Foi feita uma busca por estruturas cristalográficas de DNA de humanos no banco de dados PDB (do inglês, Protein Data Bank) (<http://www.rcsb.org/pdb/>) (BERMAN et al., 2006). As estruturas foram obtidas no formato PDB e a escolha das estruturas de DNA a serem utilizadas em nossos estudos foram feitas com base nos seguintes critérios: Resolução até 3,0 Å e co-cristalizado com ligantes em diferentes regiões (sítios de ligação). Dessa forma,

foram selecionadas duas estruturas do DNA com ligante do sulco menor (Códigos PDB: 1QV4 (MARTIN et al.; 2004) e 127D (SRIRAM et al.; 1992). Para o docking, as estruturas foram preparadas e geometrias verificadas utilizando-se o programa Pymol 0.99 para Windows (DELANO, 2002).

3.2 Obtenção e Preparo dos Ligantes

A estrutura do $Cu\alpha$ na sua forma monomérica foi obtida utilizando o programa Spartan'08 (Spartan'08, Wavefunction, Inc. Irvine, CA. Y. SHAO et al., 2006) a partir de resultados publicados anteriormente pelo grupo de pesquisas da UENF, conforme mencionado, em sua forma dimérica, que foi obtida através de difração de raio X de cristais (FERNANDES et al.; 2015). A estrutura monomérica foi editada de modo a simular dois momentos de hidratação, baseados nos modelos descritos para a cisplatina, onde se perde um cloro a cada hidratação e, sendo assim, duas estruturas do $Cu\alpha$ foram desenhadas, contendo dois cloros, contendo apenas um e não contendo nenhum cloro (**Figuras 1**).



Cobre alpha mono-hidratado

Cobre alpha bis-hidratado

Figura 1; Estruturas planas do $Cu\alpha$ mono-hidratado (1) e $Cu\alpha$ bis-hidratado (2) respectivamente.

Em relação aos ligantes co-cristalizados, os mesmos foram baixados e adicionados os átomos de hidrogênio às suas estruturas. Após o desenho das estruturas, as mesmas foram otimizadas pelo método semi-empírico PM3 (STEWART, 1989) no programa Spartan'08.

3.3 Estudos de Docking Molecular

Nos estudos de docking molecular para a análise de possíveis modos de ligação e a investigação das interações atômicas predominantes neste processo, foi utilizado o programa HEX versão 8.0.0 (MAVRIDIS & RITCHIE, 2007) e a estrutura do DNA com dois ligantes interagindo no sulco menor da molécula, obtidas no PDB e devidamente preparadas.

As visualizações e análises dos resultados foram feitas no programa Pymol 0.99 para Windows (DELANO, 2002) e os resultados foram comparados com as estruturas originais obtidas no PDB.

Os modelos de DNA co-cristalizados com os ligantes dos sulcos do DNA foram selecionados a partir dos critérios mencionados no item 3.1 deste trabalho. Os mesmos foram editados utilizando o Pymol 0.99 para Windows, os ligantes foram retirados e o fragmento de DNA isolado e salvo em formato PDB.

Após o preparo da estrutura do DNA, o mesmo foi utilizado como receptor no Docking molecular utilizando o programa Hex versão 8.0.0.. Esta é uma ferramenta que vem sendo muito bem citada na literatura (AL-RASHIDAA & AHSENA, 2015), que possibilita o estudo

de Docking altomolecular, com ligantes flexíveis ou não, e que contenham metais na sua estrutura.

Os ligantes de $\text{Cu}\alpha$ a serem utilizados no Docking, com as diferentes estruturas de DNA propostas, são modelos que simulam as diferentes fases de hidratação, propostas inicialmente com base no mecanismo de ação da cisplatina (KARTALOU & ESSIGMANN, 2001). Os mesmos foram editados e checados utilizando o programa Spartan'08 e a ilustração foi feita utilizando o Pymol 0.99 para Windows (Figuras 2).

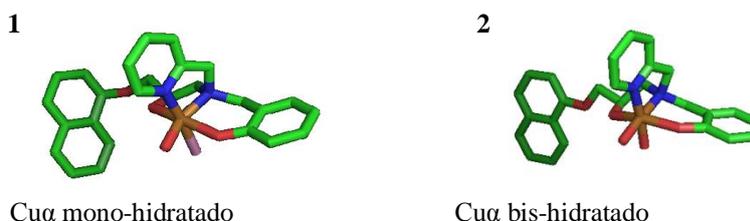


Figura 2: Estruturas em 3D do $\text{Cu}\alpha$ mono-hidratado (1) e $\text{Cu}\alpha$ bis-hidratado (2), respectivamente.

Com os receptores e ligantes preparados e salvos no formato PDB, o Docking molecular foi feito utilizando o Hex 8.0.0 e as análises dos tipos de aductos formados, tipos de interações e valores de energia foram feitos utilizando o Pymol 0.99..

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a análise de docking, o $\text{Cu}\alpha$ mono-hidratado mostrou, teoricamente, ter uma boa interação com o sulco menor do DNA no modelo 1QV4 (Figura 3). Foram observadas, no total, 7 interações do tipo ligação de hidrogênio. Essas interações ocorreram entre o $\text{Cu}\alpha$ e os nucleotídeos contendo Guanina e Citosina. Entretanto, não foram observadas interações do tipo empilhamento- π .

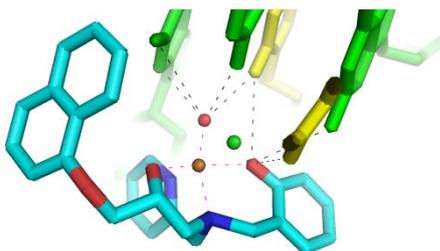


Figura 3: Docking molecular de $\text{Cu}\alpha$ mono-hidratado (ciano) no sulco menor do DNA do modelo 1QV4, mostrando interações por ligação de hidrogênio na guanina (verde) e citosina (amarelo); Interações por ligação de hidrogênio (linha pontilhada preta); interação de coordenação metálica do Cu com o ligante do complexo (linha pontilhada magenta); elementos do complexo de coordenação: C (ciano), O (vermelho), N (azul), Cl (verde) e Cu (laranja).

Através dos estudos de docking, o $\text{Cu}\alpha$ mono-hidratado mostrou ter, teoricamente, boa interação com o sulco menor do DNA utilizando a estrutura 127D (Figura 4). Foram

observadas, no total, 5 interações do tipo ligação de hidrogênio. Essas interações ocorreram entre o Cu α e os nucleotídeos contendo Guanina e Citosina. Não foram observadas interações do tipo empilhamento- π .

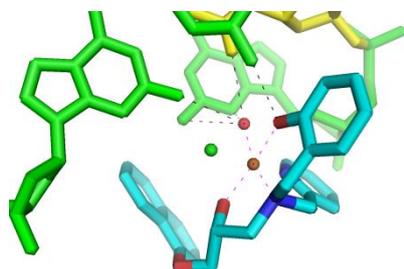


Figura 4: *Docking* molecular de Cu α mono-hidratado (ciano) no sulco menor do DNA do modelo 127D, mostrando interações por ligação de hidrogênio na guanina (verde) e citosina (amarelo); Interações por ligação de hidrogênio (linha pontilhada preta); interação de coordenação metálica do Cu com o ligante do complexo (linha pontilhada magenta); elementos do complexo: C (ciano), O (vermelho), N (azul), Cl (verde) e Cu (laranja).

O Cu α bis-hidratado mostrou teoricamente ter uma boa interação com o sulco menor do DNA. Foram observadas, no total, 8 interações do tipo ligação de hidrogênio (**Figura 5**). Essas interações ocorreram entre o Cu α e os nucleotídeos contendo Guanina e Citosina. Ressalta-se que as interações foram semelhantes àquelas observadas no docking com o Cu α mono-hidratado e mesma estrutura do DNA, código 1QV4. Da mesma forma, não foram observadas interações do tipo empilhamento- π .

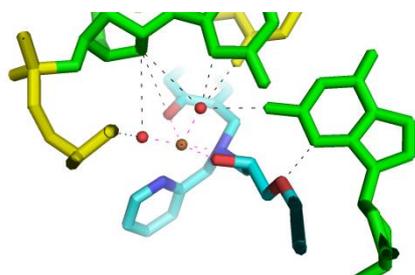


Figura 5: *Docking* molecular de Cu α bis-hidratado (ciano) no sulco menor do DNA do modelo 1QV4, mostrando interações por ligação de hidrogênio na guanina (verde) e citosina (amarelo), Interações por ligação de hidrogênio (linha pontilhada preta), interação de coordenação metálica do Cu com o ligante do complexo (magenta). Elementos do complexo: C (ciano), O (vermelho), N (azul) e Cu (laranja).

Nessa análise, o Cu α bis-hidratado mostrou ter, teoricamente, razoável interação com o sulco menor do DNA de estrutura 127D, bem diferente e distante das interações observadas no docking com o Cu α mono-hidratado pois foram observadas, no total, 2 interações do tipo ligação de hidrogênio (**Figura 6**). Essas interações ocorreram entre o Cu α e os nucleotídeos contendo Guanina. Não foram observadas interações do tipo empilhamento- π .

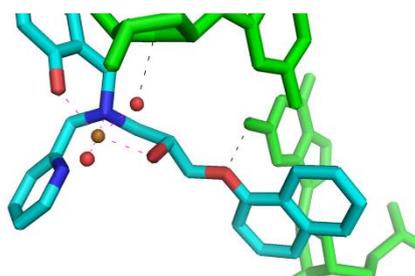


Figura 6: *Docking* molecular de Cu α bis-hidratado (ciano) no sulco menor do DNA do modelo 127D, mostrando interações por ligação de hidrogênio nas guaninas (verde); Interações por ligação de hidrogênio (linha pontilhada preta); interação de coordenação metálica do Cu com o ligante do complexo (magenta); elementos do complexo: C (ciano), O (vermelho), N (azul) e Cu (laranja).

Os estudos de *Docking* do Cu α , mono, bis e tri hidratado com os cristais onde o DNA interage com ligantes de sulco do DNA (1QV4 e 127D) estão resumidos na **Tabela 1**. Os dados teóricos obtidos corroboram a análise visual feita anteriormente, sugerindo que os compostos de cobre interagem com os sulcos do DNA nas estruturas selecionadas para este estudo. Entretanto, a observação de um maior número de interações por ligação de hidrogênio nem sempre contribui para um menor valor da energia e, portanto, pode-se presumir que podem estar ocorrendo, também, interações desfavoráveis que levam a energias com maiores valores (**Tabela 1**).

Tabela 1: Tabela comparativa das ligações e interações moleculares relevantes do *Docking* do Cu α em diferentes estágios de hidratação, com modelos de DNA com ligante do sulco menor.

Estrutura	Ligante	LH ¹	Empilhamento- π	Energia
1QV4	Cu α mono-hidratado	7	0	-284,8
	Cu α bis-hidratado	8	0	-278,3
127D	Cu α mono-hidratado	5	0	-265,4
	Cu α bis-hidratado	2	0	-288,9

¹LH= Ligação de Hidrogênio

Pode-se ressaltar, também, que o composto de Cu α mono-hidratado foi aquele que obteve a energia de interação mais favorável com o DNA de código 1QV4, enquanto que o composto de Cu α bis-hidratado apresentou energia mais favorável com a estrutura 127D (Tabela 1). Esses dados sugerem que, para cada estrutura, os requisitos para o reconhecimento molecular é diferenciado, corroborando a decisão de estudar diferentes cristais de DNA nesse trabalho.

Ademais, interações de compostos com os sulcos do DNA podem influenciar positivamente ou negativamente o processo de replicação e transcrição do DNA (CHAIRES, 1997, 1998; HAQ, 2002; HURLEY, 2002). Cabe ressaltar que vários estudos mostram que o sulco menor do DNA é um potencial alvo para o desenvolvimento de novos agentes antineoplásicos, compostos que têm sido testados nos estudos sobre o câncer (ROMANO, 2017; WANG, 2016; CAI, 2009).

Interações de compostos com os sulcos do DNA podem influenciar positivamente ou negativamente o processo de replicação e transcrição do DNA (CHAIRES, 1997, 1998; HAQ, 2002; HURLEY, 2002). Nesse contexto, dados da literatura mostram que o sulco menor do DNA é um potencial alvo para o desenvolvimento de novos agentes antineoplásicos, compostos que têm sido testados nos estudos que buscam combater o câncer (ROMANO, 2017; WANG, 2016; CAI, 2009) e, devido a isso juntamente com os dados de viabilidade celular, podemos supor que essas interações com os sulcos menores do DNA apresentadas pelos compostos de Cu α podem estar desencadeando o processo de morte celular. Entretanto, Novos estudos na área da genômica, proteômica, biologia molecular e celular ainda são necessários para elucidar o mecanismo de ação do Cu α e o grupo de pesquisa estará trabalhando nisso no futuro.

Comparando o cristal original, o redocking e a interação dos compostos de Cu α propostos (**Tabela 2**), notamos a ausência de empilhamento- π nas análises tanto do cristal, como do redocking do mesmo e nos estudos de docking com os compostos de Cu α . Na estrutura 1QV4, quando comparado com os compostos de Cu α , observam-se quantidades razoáveis de ligações de hidrogênio, porém os valores de energia são bem próximos em ambas as análises, o que pode estar ocorrendo devido a interações de outra natureza, como Van der Waals.

Tabela 2: Tabela comparativa das ligações e interações moleculares relevantes dos ligantes co-cristalizados e *Redocking* e *Docking* com Cu α .

Interação	Estrutura	LH ¹	Empilhamento- π	Energia
1QV4	Cristal	3	0	-
	<i>Redocking</i>	3	0	-279,1
	Cu α mono-hidratado	7	0	-284,8
	Cu α bis-hidratado	8	0	-278,3
127D	Cristal	6	0	-
	<i>Redocking</i>	5	0	-423,00
	Cu α mono-hidratado	5	0	-265,4
	Cu α bis-hidratado	2	0	-288,9

¹LH= Ligação de Hidrogênio

Há uma prevalência em ligações de hidrogênio em ambos os modelos propostos para a ancoragem dos complexos de cobre, confirmando então a sua melhor interação com a fenda menor do DNA. Os valores de energia de ancoragem no cristal 1QV4 e redocking são próximos em relação ao estudo de docking com os compostos de Cu α que, por sua vez, independentemente do grau de hidratação, apresentam valores de energia bem próximos entre si. Devido à natureza química lábil dos átomos de Cl, é bastante provável que os compostos de Cu α sofram processos de hidratação, assim como a cisplatina, devido à maior basicidade das moléculas de H₂O presentes na célula (KARTALOU e ESSIGMANN, 2001).

5. CONCLUSÃO

O ensaio de viabilidade celular (MTT) - mostrou que o composto Cu α é bem efetivo em células de câncer de mama, em comparação com a cisplatina, corroborando estudos anteriores do grupo onde foi mostrado um efeito seletivo no tratamento de tumores do tipo melanoma em camundongo e também com uma baixa toxicidade em células sadias de plasma humano.

Os dados de modelagem molecular, mostram que o papel intercalador dos complexos de cobre é pouco provável, em estudos teóricos, devido à sua baixa interação do tipo empilhamento- π e alta afinidade em formar ligações de hidrogênio, sugerindo que o mesmo possa estar interagindo com os sulcos do DNA.

O Cu α está interagindo diretamente com o sulco menor do DNA, cujo dado foi corroborado, teoricamente, através do docking com base em dois cristais com ligantes que interagem com o sulco menor, o 1QVR4 e o 127D.

Desse modo, juntamente com os dados *in vitro* e *in silico*, é possível presumir que a baixa viabilidade das células de câncer pode estar diretamente ligada à interação do Cu α com o sulco menor do DNA das mesmas e, com isso, reduzindo o crescimento desordenado e ativando vias apoptóticas das mesmas, talvez regulando de forma negativa processos de replicação e transcrição específicos em células de câncer.

Devido à elevada citotoxicidade observada contra as células tumorais testadas, baixa toxidez in vivo e baixo custo quando comparado a compostos de platina, o composto Cu_a é um candidato em potencial para realização de estudos pré-clínicos (farmacológicos, farmacocinéticos e toxicológicos).

Agradecimentos

Agradescimentos a CAPES, FAPERJ e CNPQ.

REFERENCIAS

- ALMEIDA, V. L. (2005) Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o DNA: uma introdução. *Química Nova*. v.28, n.1, 118-129.
- AL-RASHIDA, M.; AHSEN, S. (2015) In search of a docking protocol to distinguish between DNA intercalators and groove binders: Genetic algorithm Vs shape-complementarity based docking methods. *RSC Adv*. vol. 5, 72394-72404.
- ARREDONDO, M; NÚÑEZ, M., T. (2005) Iron and copper metabolism. *Molecular Aspects of Medicine*. V. 26, I 4-5, p 313-327.
- BARALDI P. G., BOVERO A., FRUTTAROLO F., PRETI. D., TABRIZI M. A., PAVANI M. G., ROMAGNOLI R. (2004) DNA minor groove binders as potential antitumor and antimicrobial agents. *Med. Res. Rev.*, 24(4), 475–528.
- BARREIRO, E.J.; FRAGA, C.A.M.; MIRANDA, A.L.P.; RODRIGUES, C.R. (2002). A química medicinal de N-acilidrazonas: novos compostos-protótipos de fármacos analgésicos, antiinflamatórios e antitrombóticos. *Química Nova*. Vol.25 (1), 129-148.
- BERMAN, H. M.; WESTBROOK, J.; FENG, Z.; GILLILAND, G.; BHAT, T. N.; WEISSIG, H.; SHINDYALOV, J. N.; BOURNE, P. E. (2006) The Protein Data Bank, 1999–. In: *International Tables for Crystallography Volume F: Crystallography of biological macromolecules*. Springer Netherlands,. p. 675-684.
- BRUIJNINCX, P.C.A., SADLER, P.J. (2008). ‘New Trends for Metal Complexes with Anticancer Activity’, *Current Opinion Chemical Biology*. Vol.12 (2), 197-206.
- BORGES, L. J. H.; BULL, E. S.; FERNANDES, C.; HORN, A.; AZEREDO, N. F.; RESENDE, J. A. L. C.; FREITAS, W. R.; CARVALHO, E. C. Q.; LEMOS, L. S.; JERDY, H.; KANASHIRO, M. M. (2016) In vitro and in vivo studies of the antineoplastic activity of copper (II) compounds against human leukemia THP-1 and murine melanoma B16-F10 cell lines. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 123, p. 128-140.
- BORGES, F.V., (2008). Avaliação in vitro da atividade antitumoral de compostos de coordenação de ferro. Universidade Estadual do Norte Fluminense, Dissertação de Mestrado.
- BRASILEIRO-FILHO, G; BOGLIOLO. (2006) *Patologia*. 7ed. Rio de Janeiro/RJ, GUANABARA KOOGAN.
- BRUCE, W. R.; LIN, H. (1969) An Empirical Cellular Approach to the Improvement of Cancer Chemotherapy. *Cancer Research*. v.29, p.2308-2310.
- CASCIATO, D. A. (2008) *Manual de oncologia clínica*. 1ed. São Paulo, Novo Conceito.
- CHABNER, B.A.; Longo, D.L. (1996) *Cancer chemotherapy and biotherapy*; 2a. ed., Lippincott-Raven: Filadélfia.
- CHABNER, B. A.; CALABRESI, P. (1995) *Em As Bases Farmacológicas da Terapêutica*; Goodman, L. S.; Gilman, A., eds.; Mc Graw Hill: Rio de Janeiro, p. 903-949.
- CHEN, Z.S.; Mutoh, M.; Sumizawa, T.; Furukawa, T.; Haraguchi, M.; Tani, A.; Saijo, N.; Kondo, T.; Akiyama, S., (1998) An active efflux system for heavy metals in cisplatin-resistant human KB carcinoma cells. *Exp. Cell Res*. Vol. 240, 312–320.
- FERNANDES, C.; HORN Jr, A.; LOPES, B. F.; BULL, E. S.; AZEREDO, N. F. B.; KANASHIRO, M. M.; BORGES, F. V.; BORTOLUZZI, A. J.; SZPOGANICZ, B.; PIRES, A. B.; FRANCO, R. W. A.; ALMEIDA, J. C. A.; MACIEL, L. L. F.; RESENDE, J. A. L. C.; SCHENK, G. (2015) Induction of apoptosis in leukemia cell lines by new copper(II) complexes containing naphthyl groups via interaction with death receptors. *Journal of Inorganic Biochemistry*. Vol. 153, p. 68-87.
- FERNANDES, C.; Parrilha, G.L.; Lessa, J.A.; Santiago, L.J.M.; Kanashiro, M.M.; Boniolo, F.S.; Bortoluzzi, A.J.; Vugman, N.V.; Herbst, M.H., Horn JR., A., (2006) Synthesis, crystal structure, nuclease and in vitro antitumor activities of a new mononuclear copper(II) complex containing a tripodal N3O ligand. *Inorganica Chimica Acta*, Vol. 359, 3167-3176.

- FIGUEREDO, B.L. (2012) Síntese, caracterização e avaliação da atividade antineoplásicas de compostos orgânicos e de coordenação de cobre: influência do naftol e da cumarina na atividade biológica. Tese (Doutorado em Ciências Naturais) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Naturais, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes.
- KARTALOU, M.; Essigmann, J.M., (2001) Mechanisms of resistance to cisplatin. *Mutation research*. Vol. 478, 23-43.
- KOSTOVA I. (2006) Platinum complexes as anticancer agents. *Recent Patents on Anti- Cancer Drug Delivery*, v.1, n.1, p.1–22.
- MAVRIDIS L., RITCHIE D.W. J. (2007) *Chem. Inf. Model.* , 47(5), 1787–1796.
(<http://hex.loria.fr/hex.php>, including Hex manual)
- MIDHA, K.K.; McKay, G. (2009). Bioequivalence: its history, practice, and future. *The AAPS Journal*. Vol. 11, (4) 664-670.
- PORTES, J.A. ; MOTTA, C.S. ; AZEREDO, N.F. ; FERNANDES, C. ; HORN, A. ; DE SOUZA, W. ; DAMATTA, R.A. ; SEABRA, S.H. (2017) In vitro treatment of *Toxoplasma gondii* with copper(II) complexes induces apoptosis-like and cellular division alterations. *VETERINARY PARASITOLOGY*, v. 245, p. 141-152.
- SHEIKH-HAMAD, D. (2008). Cisplatin-induced cytotoxicity: is the nucleus relevant? *American Journal Physiology - Renal Physiology*. Vol. 295, 42–43.
- STORR, T. Thompson, K. H., Orvig, C. (2006). Design of targeting ligands in medicinal inorganic chemistry. *Chemical Society Reviews*. Vol. 35, p. 534-544.
- WANG, Y. et al. (2015) In silico ADME/T modelling for rational drug design. *Quarterly reviews of biophysics*, v. 48, n. 4, p. 488-515.

APENDICE

COMPLEMENTARY STUDY OF A COMPLEX OF COPPER COORDINATION AND EVALUATION OF INTERACTION WITH HUMAN DNA IN SILICO

Abstract. *Cancer presents by the disordered proliferation of abnormal cells that integrate the genetic alterations that confer high capacity of proliferation and invasion, affecting the functioning of the tissues and organs. Recent studies show what is complex of hemotherapy processes with toxicity, where the EC 50 levels of healthy cells treated with the syndrome have been reached for tumor cells. This study, studies of docking and molecular modeling are used to optimize the process of screening in the development of new drugs. The objective of this work was to analyze the effect of cancer in the percutaneous breast via and to simulate, in silico, the interaction profile with human DNA using molecular docking. The EC 50 concentrations were inferred by the colorimetric method using MTT. Molecular modeling analyzes were performed using Pymol, for visualization and editing of structures, and Hex for molecular docking. The Cua compound demonstrated, in the infeasibility of cancer cells. Entry date into a larger interaction of the Transcription and Replication Guide, activating apoptotic pathways.*

Keywords: *Cancer, DNA, Minor groove, Docking, Molecular modeling.*