



LETICIA VITORIA MIRANDA

**INIBIDORES DE SEGUNDA GERAÇÃO E A VIA
PI3K/AKT/MTOR: CARACTERIZAÇÃO POR MODELAGEM
MOLECULAR**

**LAVRAS - MG
2025**

LETICIA VITORIA MIRANDA

**INIBIDORES DE SEGUNDA GERAÇÃO E A VIA PI3K/AKT/MTOR:
CARACTERIZAÇÃO POR MODELAGEM MOLECULAR**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, área de concentração em Química/Bioquímica, para obtenção do título de Mestre.

Profa. Dra. Elaine Fontes Ferreira da Cunha
Orientadora

Profa. Dra. Katia Julia de Almeida
Coorientadora

**LAVRAS - MG
2025**

**Ficha Catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração
de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com
dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Miranda, Leticia Vitoria.

Inibidores de segunda geração e a via PI3K/Akt/mTOR : Caracterização por modelagem molecular / Leticia Vitoria Miranda. - 2025.

123 p. : il.

Orientadora: Elaine Fontes Ferreira da Cunha

Coorientadora: Katia Julia de Almeida

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2025.
Bibliografia.

1. Ancoramento Molecular. 2. Inibidores. 3. PI3K. 4. mTOR. 5. Modelagem molecular. I. da Cunha , Elaine Fontes Ferreira . II. de Almeida, Katia Julia . III. Universidade Federal de Lavras. IV. Título.

LETICIA VITORIA MIRANDA

**INIBIDORES DE SEGUNDA GERAÇÃO E A VIA PI3K/AKT/MTOR:
CARACTERIZAÇÃO POR MODELAGEM MOLECULAR**

**SECOND-GENERATION INHIBITORS END THE PI3K/AKT/MTOR PATHWAY:
CHARACTERIZATION BY MOLECULAR MODELING**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, área de concentração em Química/Bioquímica, para obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 23 de setembro de 2025

Prof^a. Dra. Elaine Fontes Ferreira da Cunha - UFLA

Prof. Dr. Daniel Henriques Soares Leal - UNIFEI

Prof^a. Dra. Daiana Teixeira Mancini - UFLA

Profa. Dra. Elaine Fontes Ferreira da Cunha
Orientadora

Profa. Dra. Katia Julia de Almeida
Coorientadora

**LAVRAS - MG
2025**

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Wânia e Paulo, agradeço pelo amor incondicional, exemplo, compreensão e apoio, por não medirem esforços para me ver alcançando meus objetivos, por sempre acreditarem em mim e, principalmente, pela educação e pelos princípios que me deram.

À minha irmã Cassiana, pela cumplicidade, apoio, amor, amizade, exemplo e incontáveis ajudas.

A toda a minha família, pelo carinho e amor sempre depositados em mim.

A todos os meus amigos e amigas, novos e antigos, por sempre estarem ao meu lado, pelos incontáveis bons momentos e histórias, conversas e trocas.

À Universidade Federal de Lavras, em especial ao Departamento de Química, por proporcionar tantos aprendizados e oportunidades.

À minha orientadora, Profa. Dra. Elaine Fontes Ferreira da Cunha, e à minha coorientadora, Profa. Dra. Kátia Julia de Almeida, pela dedicação, paciência, compreensão e pelos valiosos ensinamentos transmitidos ao longo desta jornada. Levarei sempre comigo o exemplo inspirador de ambas e um carinho genuíno pelo tempo que compartilhamos.

À todos do grupo Molecc, pelo suporte, pelas trocas de conhecimento e pelo incentivo ao longo desta jornada.

O presente trabalho foi realizado com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para que eu pudesse completar minha Pós-graduação com êxito, meus sinceros agradecimentos.

*"A mente que se abre a uma nova ideia
jamais voltará ao seu tamanho original."*

Albert Einstein

RESUMO

A via de sinalização PI3K/Akt/mTOR desempenha um papel crucial na regulação de vários processos celulares, incluindo o ciclo celular, a sobrevivência celular, o metabolismo de glicose e lipídeos, e a apoptose. Esse complexo mecanismo envolve mais de 150 proteínas e responde a sinais extracelulares, como fatores de crescimento e nutrientes, sendo essencial para a manutenção da homeostase celular. A disfunção desta via está intimamente associada ao desenvolvimento de várias doenças, entre elas o câncer, doenças cardiovasculares e distúrbios neurodegenerativos. Em particular, no contexto do câncer, a superativação da via PI3K/Akt/mTOR, tem sido fortemente relacionada à proliferação celular descontrolada, à resistência à apoptose, e à sobrevivência celular, processos que juntos contribuem para o crescimento e progressão tumoral. Esses fatores tornam a via PI3K/Akt/mTOR um alvo terapêutico de grande importância no tratamento do câncer. A compreensão dos mecanismos de ativação e inibição desta via oferece o conhecimento necessário para o desenvolvimento de inibidores específicos das enzimas PI3K α e mTOR. A inibição seletiva ou simultânea dessas proteínas pode interromper a sinalização desregulada e, conseqüentemente, reduzir o crescimento tumoral e potencializar a eficácia dos tratamentos. A identificação de inibidores eficazes e seletivos, que possam interferir na atividade dessa via, são destacados na literatura como alvos emergentes de pesquisa científica em química medicinal. Para alcançar esse objetivo, a aplicação de técnicas computacionais, como o ancoramento molecular (*molecular Docking*), tem se mostrado uma metodologia fundamental para otimização de tempo e assertividade no desenvolvimento de fármacos. Neste trabalho, descritores moleculares baseados nas energias de interação entre os ligantes e os resíduos de aminoácidos do sítio ativo das enzimas foram correlacionados com a atividade biológica (pIC_{50}) por meio de regressão linear múltipla (MLR). Os modelos apresentaram boa correlação e possibilitaram a identificação de resíduos-chave relacionados à potência dos inibidores. As propostas PA1–PA5 mostraram que substituintes volumosos em R3 favorecem a seletividade para mTOR, enquanto grupos menores em R1 favorecem PI3K α . Já os compostos PB1–PB5 confirmaram que pequenas modificações em R3 modulam a seletividade entre as enzimas, com destaque para PB1, seletivo para mTOR, e PB3, com potencial de inibição dual.

Palavras-chave: Ancoramento; Molecular; Inibidores; PI3K; mTOR; Modelagem molecu.

ABSTRACT

The PI3K/Akt/mTOR signaling pathway plays a crucial role in regulating various cellular processes, including the cell cycle, cell survival, glucose and lipid metabolism, and apoptosis. This complex mechanism involves more than 150 proteins and responds to extracellular signals, such as growth factors and nutrients, being essential for maintaining cellular homeostasis. Dysfunction of this pathway is closely associated with the development of several diseases, including cancer, cardiovascular diseases, and neurodegenerative disorders. In particular, within the context of cancer, hyperactivation of the PI3K/Akt/mTOR pathway has been strongly linked to uncontrolled cell proliferation, resistance to apoptosis, and cell survival processes that together contribute to tumor growth and progression. These factors make the PI3K/Akt/mTOR pathway a highly important therapeutic target for cancer treatment. Understanding the mechanisms of activation and inhibition of this pathway provides the necessary knowledge for developing specific inhibitors of PI3K α and mTOR proteins. Selective or simultaneous inhibition of these proteins can disrupt dysregulated signaling and, consequently, reduce tumor growth and enhance treatment efficacy. The identification of effective and selective inhibitors that can interfere with the activity of this pathway is highlighted in the literature as an emerging research target in medicinal chemistry. To achieve this goal, the application of computational techniques, such as molecular docking, has proven to be a fundamental methodology for optimizing time and accuracy in drug development. In this work, molecular descriptors based on the interaction energies between the ligands and the active site residues of the enzymes were correlated with biological activity (pIC_{50}) using multiple linear regression (MLR). The models showed good correlation and enabled the identification of key residues associated with inhibitor potency. The PA1–PA5 compounds demonstrated that bulky substituents at R3 favor selectivity for mTOR, while smaller groups at R1 favor PI3K α . The PB1–PB5 compounds confirmed that small modifications at R3 modulate enzyme selectivity, with PB1 standing out for mTOR selectivity and PB3 showing potential for dual inhibition.

Keywords: Molecular Docking; Inhibitors; PI3K; mTOR; Molecular Modeling.

INDICADORES DE IMPACTO

Este estudo sobre inibidores seletivos e duais das enzimas PI3K α e mTOR, componentes fundamentais da via de sinalização PI3K/Akt/mTOR, amplia as perspectivas da pesquisa em saúde ao contribuir para o entendimento de mecanismos moleculares relacionados à proliferação celular e ao desenvolvimento do câncer, além de outras comorbidades. A investigação impulsiona a inovação científica e tecnológica ao empregar metodologias de modelagem molecular, ancoramento molecular e análise multivariada, permitindo uma análise abrangente das interações entre os ligantes e os sítios ativos das enzimas. Essa abordagem possibilita a proposição de modificações estruturais em protótipos moleculares com potencial inibitório otimizado, oferecendo subsídios teóricos para o desenvolvimento de fármacos mais eficazes e direcionados. O trabalho fortalece a interface entre ciência e aplicação prática, ao alinhar o conhecimento computacional à descoberta de compostos bioativos de interesse farmacêutico, promovendo o avanço de estratégias terapêuticas voltadas ao controle de doenças decorrentes de distúrbios desta via de sinalização celular. Além de gerar impacto acadêmico, a pesquisa favorece a aproximação entre universidade e sociedade, ao gerar a possibilidade de se estabelecer colaborações com centros de pesquisa e indústrias interessadas na inovação em saúde. Por se tratar de abordagens teóricas, os métodos empregados não requerem o uso de solventes, reagentes químicos ou experimentação animal, tornando o estudo ambientalmente responsável e alinhado aos princípios de sustentabilidade. A partir dessa integração entre ciência, tecnologia e ética ambiental, fomenta-se a difusão do conhecimento e o fortalecimento institucional na área de química computacional aplicada. O estudo se insere nas áreas temáticas Tecnologia e Produção e Saúde, conforme a Política Nacional de Extensão, e está alinhado aos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável da ONU, especialmente o ODS 3 (Saúde e Bem-Estar), o ODS 9 (Indústria, Inovação e Infraestrutura) e o ODS 12 (Consumo e Produção Responsáveis). Ao unir ciência, tecnologia e compromisso social, esta pesquisa reafirma o papel da Universidade Federal de Lavras como promotora de inovação e desenvolvimento sustentável no campo da saúde.

IMPACT INDICATORS

This study on selective and dual inhibitors of the PI3K α and mTOR enzymes, which are fundamental components of the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway, broadens health research perspectives by contributing to the understanding of molecular mechanisms related to cell proliferation and cancer development, as well as other comorbidities. This investigation drives scientific and technological innovation through the use of molecular modeling, molecular docking, and multivariate analysis methodologies, enabling a comprehensive assessment of ligand–enzyme active site interactions. This approach allows for proposing structural modifications in molecular prototypes with optimized inhibitory potential, providing theoretical support for the development of more effective and targeted drugs. The work strengthens the interface between science and practical application by aligning computational knowledge with the discovery of bioactive compounds of pharmaceutical interest, promoting the advancement of therapeutic strategies aimed at controlling diseases arising from disorders in this signaling pathway. In addition to generating academic impact, the research fosters closer collaboration between university and society by creating opportunities for partnerships with research centers and industries interested in health innovation. As it involves theoretical approaches, the methods used do not require solvents, chemical reagents, or animal testing, making the study environmentally responsible and aligned with sustainability principles. Through this integration of science, technology, and environmental ethics, the research promotes knowledge dissemination and institutional strengthening in the field of applied computational chemistry. The study falls within the thematic areas of Technology and Production and Health, according to the National Extension Policy, and aligns with the United Nations Sustainable Development Goals (SDGs), particularly SDG 3 (Good Health and Well-being), SDG 9 (Industry, Innovation and Infrastructure), and SDG 12 (Responsible Consumption and Production). By uniting science, technology, and social commitment, this research reaffirms the role of the Federal University of Lavras as a promoter of innovation and sustainable development in the health sector.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	OBJETIVOS	13
2.1	Objetivo Geral.....	13
2.2	Objetivos específicos	13
3	REFERENCIAL TEÓRICO	14
3.1	Proteínas e vias de sinalização celular	14
3.2	Via PI3k/Akt/mTOR: Aspectos Estruturais e Funcionais	17
3.2.1	Características Estruturais e Funcionais das Proteínas PI3K, Akt e mTOR.....	17
3.2.1.1	Proteínas mTOR	17
3.2.1.2	Proteínas PI3K.....	21
3.2.1.3	Proteínas Akt	24
3.2.2	Função e regulação da atividade da via PI3K/Akt/mTOR	26
3.3	Patologias relacionadas à sinalização e regulação da via PI3K/Akt/mTOR	28
3.3.1	Sinalização no câncer	28
3.3.2	Sinalização em desordens metabólicas.....	30
3.3.3	Sinalização em doenças neurológicas.....	31
3.3.4	Sinalização em doenças inflamatórias.....	32
3.4	Inibidores da via PI3K/Akt/mTOR em doenças humanas.....	32
3.4.1	Inibidores de primeira geração	32
3.4.2	Inibidores de segunda geração.....	34
3.4.3	Inibidores de terceira e quarta geração	36
3.5	Modelagem molecular	38
3.5.1	Ancoramento Molecular.....	38
3.5.1.1	Ancoramento molecular no desenho reacional de fármacos baseado em estrutura	39
3.5.1.2	<i>Redocking</i>	40
3.5.1.3	Análise Multivariada.....	41
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	42
4.1	Estruturas dos inibidores de segunda geração	42
4.2	Preparo das enzimas PI3K α e mTOR	44
4.3	Ancoramento molecular.....	45
4.4	Descritores Moleculares	47

4.5 Regressão linear múltipla.....	47
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
5.1 Cálculos de ancoramento molecular	48
5.2 Regressão linear múltipla (MLR)	50
5.2.1 Grupo A.....	50
5.2.2 Grupo B.....	63
6 CONCLUSÃO	75
REFERÊNCIAS.....	76
MATERIAL SUPLEMENTAR.....	86
Tabela S1 - Estruturas químicas e dados de atividade dos Ligantes (pIC ₅₀) do Grupo A para mTOR/PI3K α	86
Tabela S2 - Valores de energia (Moldock, intermolecular e ligação de hidrogênio) obtidos em kcal.mol ⁻¹ para cada composto do grupo A com a enzima mTOR.	92
Tabela S3 - Energias intermoleculares obtidas entre a enzima mTOR e os compostos do grupo A.	94
Tabela S4 - Valores de energia (Moldock, intermolecular e ligação de hidrogênio) obtidos em kcal.mol ⁻¹ para cada composto do grupo A com a enzima PI3K α	100
Tabela S5 - Energias intermoleculares obtidas entre a enzima PI3K α e os compostos do grupo A.	101
Tabela S6 - Estruturas químicas e dados de atividade (pIC ₅₀) dos Ligantes do Grupo B para mTOR/PI3K α	105
Tabela S7 - Valores de energia (Moldock, intermolecular e ligação de hidrogênio) obtidos em kcal.mol ⁻¹ para cada composto do grupo B com a enzima mTOR.....	110
Tabela S8 - Energias intermoleculares obtidas entre a enzima mTOR e os compostos do grupo B	111
Tabela S9 - Valores de energia (Moldock, intermolecular e ligação de hidrogênio) obtidos em kcal.mol ⁻¹ para cada composto do grupo B com a enzima PI3K α	117
Tabela S10 - Energias intermoleculares obtidas entre a enzima PI3K α e os compostos do grupo B	118

1 INTRODUÇÃO

O câncer constitui um dos maiores desafios da medicina moderna, caracterizado por sua heterogeneidade e por mecanismos ainda não totalmente compreendidos, o que contribui para sua imprevisibilidade clínica (HANAHAN; WEINBERG, 2000; HANAHAN; WEINBERG, 2011; HANAHAN, 2022). Além de sua complexidade biológica, a doença representa um problema crescente de saúde pública. Em 2022, foram registrados cerca de 20 milhões de novos casos e 9,7 milhões de mortes, e estima-se que, até 2050, esses números possam atingir aproximadamente 35,3 milhões de casos e 18,5 milhões de óbitos por ano (BIZUAYEHU; AHMED; KIBRET et al., 2024). Esses números reforçam a urgência de estratégias inovadoras para prevenção, diagnóstico e tratamento da doença.

Entre os diversos mecanismos moleculares associados ao desenvolvimento e progressão tumoral, destaca-se a via de sinalização PI3K/Akt/mTOR, que regula processos fundamentais como o ciclo celular, a sobrevivência, a apoptose e o metabolismo. A desregulação dessa via está relacionada não apenas ao câncer, mas também a doenças neurológicas, metabólicas e inflamatórias, tornando suas proteínas alvos terapêuticos de grande interesse (DENG; QING; HUANG, 2024; KOCHEN; ANDREWS; WILEY; FENG *et al.*, 2022). Assim, compreender seus mecanismos de ativação e inibição e desenvolver inibidores mais eficazes são passos essenciais para a ampliação das opções terapêuticas e redução do impacto da doença.

Nesse contexto, a química medicinal surge como uma ciência interdisciplinar que integra química, bioquímica, farmacologia e medicina, voltada para a descoberta de novos fármacos. Até a década de 1980, sua atuação era limitada pelo conhecimento insuficiente sobre alvos biológicos e pela baixa eficiência dos métodos de síntese, tornando o processo de descoberta de fármacos lento e dependente da intuição dos pesquisadores. Com o avanço da biologia molecular e o desenvolvimento de tecnologias mais completas como a triagem de alto rendimento, modelagem molecular computacional, inteligência artificial e aprendizado de máquina. Com isso, a química medicinal passou a adotar abordagens mais sofisticadas, acelerando a identificação de compostos promissores e aumentando a eficiência do desenvolvimento de fármacos, além de reduzir falhas relacionadas à eficácia e segurança (GIOIELLO; PICCINNO; LOZZA; CERRA, 2020).

Dentro desse contexto, a modelagem molecular se destaca como uma ferramenta de alta relevância, diretamente integrada à química medicinal moderna. Uma de suas principais aplicações é o desenho racional de fármacos baseado em estrutura. Essa metodologia utiliza o

ancoramento molecular (*Molecular Docking*) para acoplar moléculas ao sítio ativo de proteínas-alvo, permitindo prever interações e avaliar seu potencial biológico. A elucidação de estruturas proteicas por difração de raios-X, modelagem por homologia e ressonância magnética nuclear (RMN) fornece a base estrutural necessária, enquanto o conhecimento detalhado dessas interações contribui para a redução de custos e a otimização do tempo investido na pesquisa e desenvolvimento de novos fármacos (PISULA; DRÓZDŹ; CHEŁMECKA, 2020).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

O objetivo deste estudo é analisar as interações entre as enzimas PI3K α e mTOR e inibidores duplos ou seletivos, previamente descritos na literatura como potenciais inibidores em testes *in vitro*. Por meio de modelagem molecular, busca-se investigar os sítios farmacofóricos envolvidos nas interações receptor-ligante e como estes influenciam a atividade biológica dos compostos investigados, visando propor modificações estruturais que possam otimizar seu potencial inibitório.

2.2 Objetivos específicos

- Realizar o ancoramento molecular dos ligantes nos sítios ativos das enzimas PI3K α e mTOR;
- Identificar os resíduos mais relevantes para o processo de inibição, com base nas interações intermoleculares observadas;
- Usar descritores que levam informações a respeito do receptor e que tenham sentido físico;
- Estabelecer correlações, por meio da análise multivariada, entre as energias de interação e os valores de atividade biológica (pIC₅₀), a fim de validar os dados teóricos frente aos resultados experimentais;
- Desenvolver protótipos de novos compostos fundamentados nas interações-chave e nos padrões estruturais que determinam a seletividade, visando comparar seu efeito entre as enzimas estudadas.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Proteínas e vias de sinalização celular

As proteínas são macromoléculas essenciais que desempenham uma ampla gama de funções biológicas nos mais diversos organismos, o que as tornam especialmente complexas, tanto em termos de sua estrutura tridimensional quanto de composição química. Essas macromoléculas são polímeros com mais de 10.000 unidades de massa atômica, formadas por centenas de aminoácidos unidos por ligações peptídicas. Estas ligações sustentam a estrutura das proteínas e conferem a esses complexos proteicos formas e dinâmicas variadas. A estrutura das proteínas engloba quatro tipos de arranjos, denominados de estrutura primária, secundária, terciária e quaternária (STOLLAR; SMITH; PORTLAND, 2020; ZHU; AVAKYAN; KAKKIS; HOFFNAGLE *et al.*, 2021). A estrutura terciária de uma proteína refere-se à sua aparência tridimensional, determinada pelo padrão de dobramento que as alfa hélices, as folhas beta e outros elementos da estrutura secundária adotam ao longo da formação da cadeia proteica. A estrutura quaternária refere-se a interação de múltiplas cadeias proteicas (subunidades) que interagem entre si e se organizam para dar origem a novos complexos proteicos maiores.(STOLLAR; SMITH; PORTLAND, 2020).

Dada a complexidade da organização tridimensional das proteínas, é essencial considerar os elementos estruturais conhecidos como motivos e domínios, que desempenham papéis fundamentais na conformação e função global das proteínas. Os motivos são regiões mais conservadas de aminoácidos, com funções específicas, como pontos de ligação química, e podem estar presentes em várias proteínas, principalmente se forem da mesma família. Essas estruturas são altamente estáveis e fáceis de dobrar, embora não possam existir de forma independente. Por outro lado, os domínios são estruturas tridimensionais compactas e independentes do restante da cadeia proteica, formadas pelo arranjo dos elementos e motivos das estruturas secundárias, denominados como dobras. Normalmente, as proteínas maiores são formadas por diferentes domínios ligados entre si para dar origem a função global da proteína, onde cada domínio tem uma função estrutural ou funcional distinta, como catálise ou ativação genética (STOLLAR; SMITH; PORTLAND, 2020).

A função de uma proteína é determinada por sua estrutura tridimensional global, que, por sua vez, é regida por sua sequência única de aminoácidos. Entre as diversas funções biológicas das proteínas estão a transdução de sinais, a transcrição genética, a regulação da

morte celular, as funções imunológicas, o suporte estrutural e a catálise de todas as reações metabólicas nos mais diversos organismos (MORRIS; BLACK; STOLLAR, 2022).

De forma geral, as proteínas podem ser classificadas em diferentes famílias. As enzimas são um grupo de proteínas que catalisam reações químicas, reduzindo a energia de ativação necessária para essas reações. Esse processo aumenta ou regula a taxa de reação, desempenhando um papel fundamental nos processos bioquímicos dos organismos vivos. As proteínas estruturais compõem o grupo de proteínas mais abundante na natureza, sendo essenciais tanto para a formação quanto para a manutenção da estrutura celular. As proteínas de armazenamento são usadas pelos organismos como fontes de aminoácidos e também para armazenar íons metálicos essenciais como o ferro. As proteínas de sinalização, presentes nas membranas plasmáticas, citoplasma, núcleo e mitocôndrias, desempenham um papel crucial na regulação da maquinaria celular, uma vez que promovem a comunicação entre as células e governam suas respostas aos estímulos do ambiente circundante. As proteínas de transporte são responsáveis por transportar moléculas dentro das células ou por todo o corpo, como é o exemplo da hemoglobina, que transporta oxigênio para diversas partes do corpo humano. As proteínas reguladoras garantem que cada proteína desempenhe sua função no local e momento adequado. Uma de suas principais funcionalidades é a regulação da expressão genética, uma função celular central para todos os organismos. Ademais, tem-se as proteínas de defesa que atuam como bloqueadoras de ataques externos ao organismo, os anticorpos são exemplos dessa classe de enzimas- (AWATA; OUEDRAOGO; KACHIGUMA; GMAKOUBA *et al.*, 2020; ESPINOSA-CANTÚ; CRUZ-BONILLA; NODA-GARCIA; DELUNA, 2020; MORRIS; BLACK; STOLLAR, 2022).

Para que um complexo proteico exerça sua plena funcionalidade, é essencial que seu domínio esteja em sua conformação nativa, que é a forma funcional e dobrada da proteína. Essa conformação nativa resulta das interações favoráveis entre as cadeias laterais dos aminoácidos presentes nas cadeias polipeptídicas. Tais interações, incluindo ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas, interações iônicas, ligações dissulfeto e forças de van der Waals, são cruciais para a estabilidade estrutural da proteína e, conseqüentemente, para sua atividade. Em geral, as proteínas mantêm suas conformações nativas, no entanto, fatores externos como variações de pH, temperatura, e a presença de agentes oxidantes ou redutores podem causar seu desdobramento parcial/total e sua desnaturação. Esse processo resulta na perda da conformação nativa da proteína e, conseqüentemente, de sua atividade (AWATA; OUEDRAOGO; KACHIGUMA; GMAKOUBA *et al.*, 2020; STOLLAR; SMITH; PORTLAND, 2020).

A manutenção da conformação nativa das proteínas é particularmente importante no contexto da sinalização celular, que é o processo geral pelo qual as células se comunicam entre si e respondem a sinais externos. A comunicação entre as células na sinalização celular é mediada pelas vias de sinalização, que são complexas redes de interações moleculares que operam em cascata transmitindo e amplificando sinais dentro das células. Essa comunicação é essencial para a sobrevivência, desenvolvimento e funcionamento adequado de todos os organismos multicelulares, pois permite a adaptação desses organismos às condições do ambiente. As células captam e respondem a esses sinais por meio de receptores, que são proteínas encontradas na membrana plasmática ou no interior das células. O processo inicia-se quando o sinal ou ligante, uma molécula mensageira, se liga ao seu receptor específico. A efetivação dessa ligação provoca alterações conformacionais na estrutura do receptor, ativando subseqüentes reações mediadas por segundos mensageiros ou intermediários de sinalização. Esses intermediários transduzem o estímulo do receptor, convertendo-o em uma resposta celular específica. (NAIR; CHAUHAN; SAHA; KUBATZKY, 2019; ULLO; CASE, 2023).

A regulação das vias de sinalização celular pode ocorrer de dois modos, por regulação positiva ou negativa, que operam de maneiras diferentes. A regulação positiva envolve mecanismos que aumentam ou amplificam a sinalização, como a ativação de quinases e ciclos de feedback positivo, enquanto a regulação negativa inclui mecanismos que inibem ou atenuam a sinalização, como a fosforilação de moléculas sinalizadoras para inativação e a ativação de fosfatases. Ambas são essenciais para o funcionamento adequado das vias de sinalização celular, garantindo a amplificação do sinal e respostas celulares apropriadas, ao mesmo tempo que previnem a superativação, mantendo a homeostase celular e regulando a duração e intensidade das respostas (MUKHERJEE; VANAJA; BOYER; GADAL *et al.*, 2021; WADA; SUN-WADA, 2013).

Em organismos complexos, como o corpo humano, há inúmeras possibilidades de interligação entre as vias de sinalização, que conseqüentemente podem impactar na regulação dessas vias. O crosstalk, ou comunicação cruzada, é um processo que envolve a interação entre diferentes vias de sinalização por meio de receptores transmembrana, o que permite que as células respondam de maneira coordenada a diversos estímulos simultâneos. A desregulação do crosstalk pode gerar uma comunicação cruzada defeituosa e provocar reações em cascata subseqüentes, resultando em comportamentos celulares irregulares e, conseqüentemente, em disfunções e doenças. As reações de sinalização, especialmente quando desreguladas, são frequentemente associadas ao desenvolvimento de diversas

doenças, sendo o câncer um dos principais exemplos discutidos na literatura (ARKUN, 2019; NAIR; CHAUHAN; SAHA; KUBATZKY, 2019; RADAK; FALLAHI, 2024; ULLO; CASE, 2023).

3.2 Via PI3k/Akt/mTOR: Aspectos Estruturais e Funcionais

3.2.1 Características Estruturais e Funcionais das Proteínas PI3K, Akt e mTOR

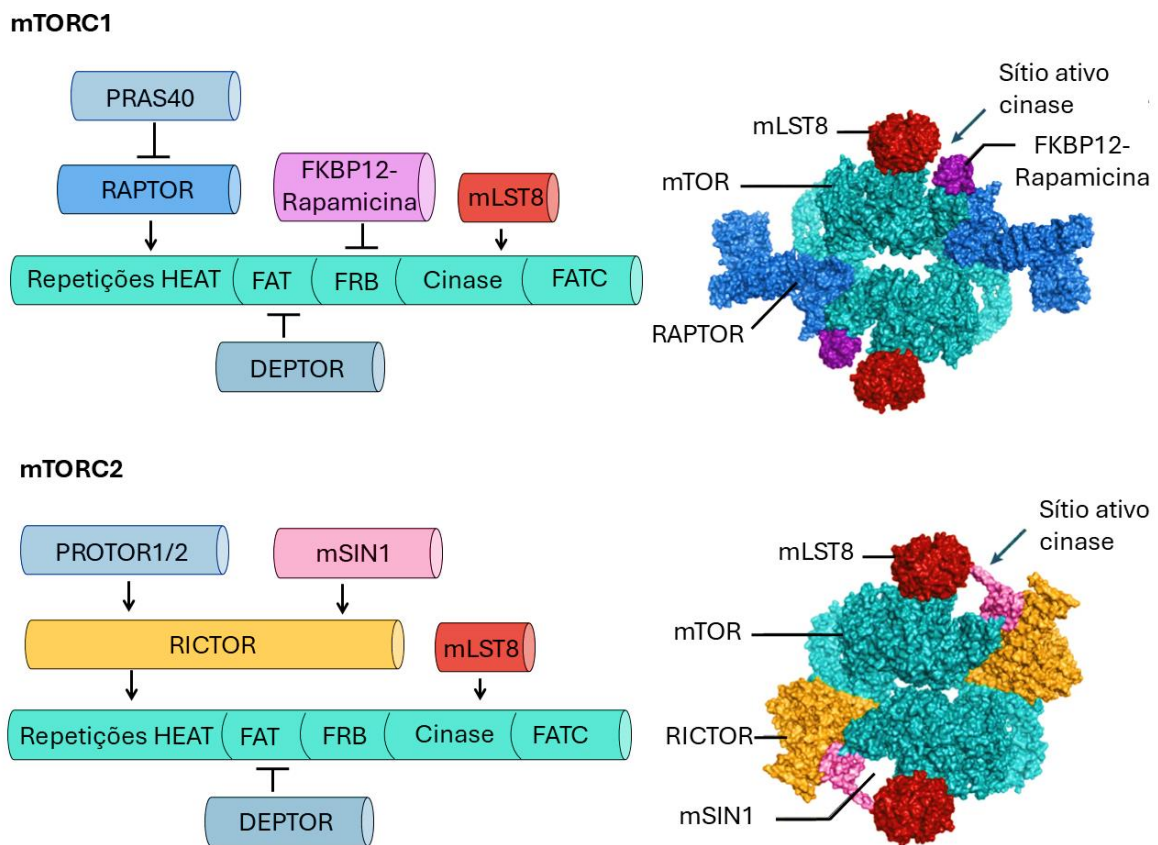
3.2.1.1 Proteínas mTOR

A proteína alvo da rapamicina em mamíferos, mTOR, caracterizada em 1994, é uma enzima serina/treonina quinase capaz de controlar diferentes processos metabólicos, modulando os principais processos celulares, como a síntese de proteínas e a autofagia. A rapamicina, caracterizada como o primeiro inibidor da atividade da mTOR, foi descoberta por farmacêuticos em 1964, em uma amostra de solo da Ilha de Páscoa, no Chile, sendo inicialmente reconhecida por sua elevada atividade antifúngica. Posteriormente, em 1999 a rapamicina foi aprovada pelo FDA (*Food and Drug Administration*) dos Estados Unidos como um fármaco imunossupressor, recomendado a pacientes em recuperação de transplante de rins. Com o avanço na compreensão do mecanismo de ação da rapamicina, novas propriedades farmacológicas, especialmente no contexto antitumoral, foram descobertas, revelando o potencial extenso de descobertas adicionais relacionadas ao seu alvo, a proteína mTOR (LIU; SABATINI, 2020; PUTYRSKI; SCHULTZ, 2012).

Em mamíferos, a mTOR é encontrada no interior das células na forma de dois complexos catalíticos, mTORC1 e mTORC2 representados na Figura 3.1. Estes complexos se diferenciam em relação as suas proteínas constituintes e também em sua sensibilidade à rapamicina, sendo somente o complexo mTORC1 fortemente inibido por este composto. Isso se deve ao impedimento estérico causado pela presença de RICTOR no mTORC2, que bloqueia o acoplamento da FKBP12 ao domínio FRB (Figura 3.1), resultando na resistência deste complexo à rapamicina. O complexo mTORC1 é composto pelas proteínas PRAS40, RAPTOR, DEPTOR e mLST8, enquanto o complexo mTORC2 é composto pelas proteínas PROTOR1/2, mS1N1, DEPTOR, RICTOR e mLST8. Cada uma dessas proteínas compõem as subunidades da mTOR, atuando como componentes de reconhecimento e regulação. O complexo mTORC1 regula o catabolismo e anabolismo celular e é ativado por estímulos vindos da membrana lisossomal, como nutrientes e fatores de crescimento. Por meio da ação

de diferentes intermediários, o complexo mTORC1, uma vez ativado, inicia um processo anabólico que aumenta a produção de proteínas, lipídios, nucleotídeos e outras macromoléculas, ao mesmo tempo em que inibe processos catabólicos, como a autofagia e a biogênese lisossômica. Já o complexo mTORC2, quando ativado por estímulos vindos da membrana plasmática, é responsável por processos celulares essenciais, como o metabolismo da glicose, a proliferação celular, a sobrevivência celular e a morfologia celular (KIM; GUAN, 2019; LINDE-GARELLI; ROGALA, 2023; LIU; SABATINI, 2020).

Figura 3.1 – Estrutura tridimensional dos complexos mTORC1 e mTORC2.



Legenda: Estrutura tridimensional dos complexos mTORC1 e mTORC2 (PDB ID: 5FLC e 5ZCS); diagrama do domínio proteico, destacando os terminais onde as subunidades se conectam para formar os complexos 1 e 2.

Fonte: Adaptado de Liu e Sabatine (2020).

Conforme descrito na Figura 3.1, o complexo mTORC1 possui dois sítios ativos, alocados nos domínios FRB e quinase. O primeiro sítio interage apenas com a rapamicina, ou seus derivados análogos, esta interação promove a inibição total ou em partes da sinalização

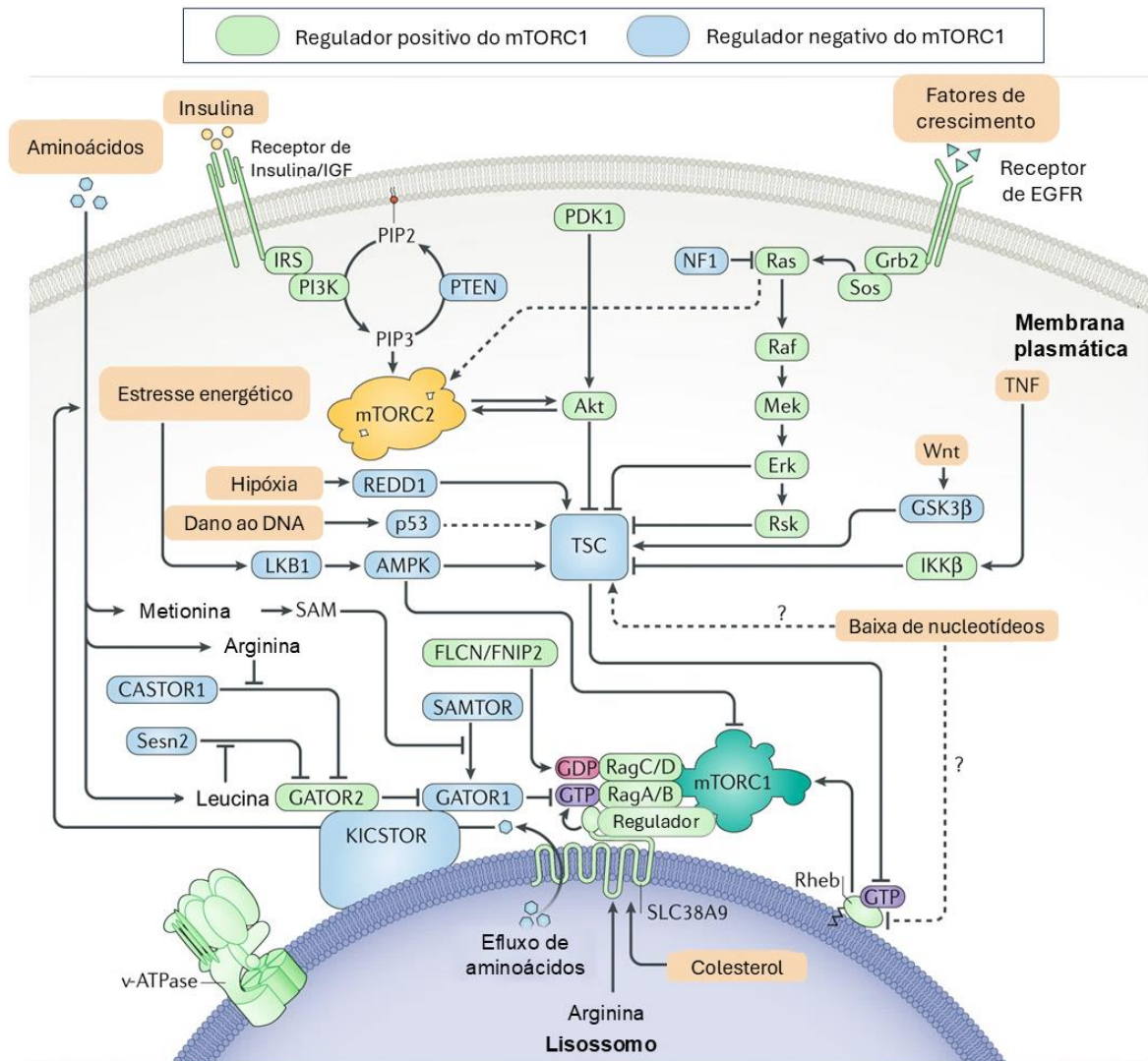
do complexo mTORC1 (CHOO; YOON; KIM; ROUX *et al.*, 2008; KANG; PACOLD; CERVANTES; LIM *et al.*, 2013). O segundo sítio, por outro lado, interage com substratos fosforilados específicos, como as proteínas S6K, 4E-BP1 e ULK1, especialmente a adenosina trifosfato (ATP). Esta interação promove a fosforilação de diversos substratos que também se ligam a este sítio, desencadeando a sinalização necessária para a ativação do anabolismo celular (BATTAGLIONI; BENJAMIN; WÄLCHLI; MAIER *et al.*, 2022).

O sítio ativo do complexo mTORC2, alocado no domínio mLST8, conduz a fosforilação e ativação de grupos de substratos distintos em comparação com o mTORC1. Este grupo de substratos, em específico as proteínas Akt1, SGK1 e diferentes isoformas da PKC (PKC α , PKC β II, PKC δ , PKC γ , PKC ϵ , PKC ζ e PKC ι), implicam na organização do citoesqueleto, na regulação da sobrevivência celular e na resposta ao estresse (BASKARAN; MIHAYLOV; VINSLAND; SHAH *et al.*, 2023; KIM; GUAN, 2019; LIU; SABATINI, 2020).

A ativação e regulação dos complexos mTORC1 e mTORC2 são controladas pelos estímulos upstream¹, que incluem os níveis de nutrientes (aminoácidos e glicose), fatores de crescimento (insulina e fator de crescimento semelhante à insulina 1 - IGF-1), energia (quantidade de ATP disponível) e estresse (falta de nutrientes, hipóxia ou danos ao DNA) (Figura 3.2).

¹ Via de sinalização a montante, desencadeada pela ligação de uma molécula sinalizadora a um receptor.

Figura 3.2 – Regulação a montante dos complexos mTORC1 e mTORC2.



Legenda: O processo de sinalização na membrana plasmática que promove a ativação ou inibição do mTORC1 e mTORC2 dependem de fatores externos, como nutrientes, aminoácidos, insulina e fatores de crescimento. Esses complexos são afetados pelo estresse energético, hipóxia, danos ao DNA e quantidade disponível de lisossomos.

Fonte: Adaptado de Liu e Sabatini (2020).

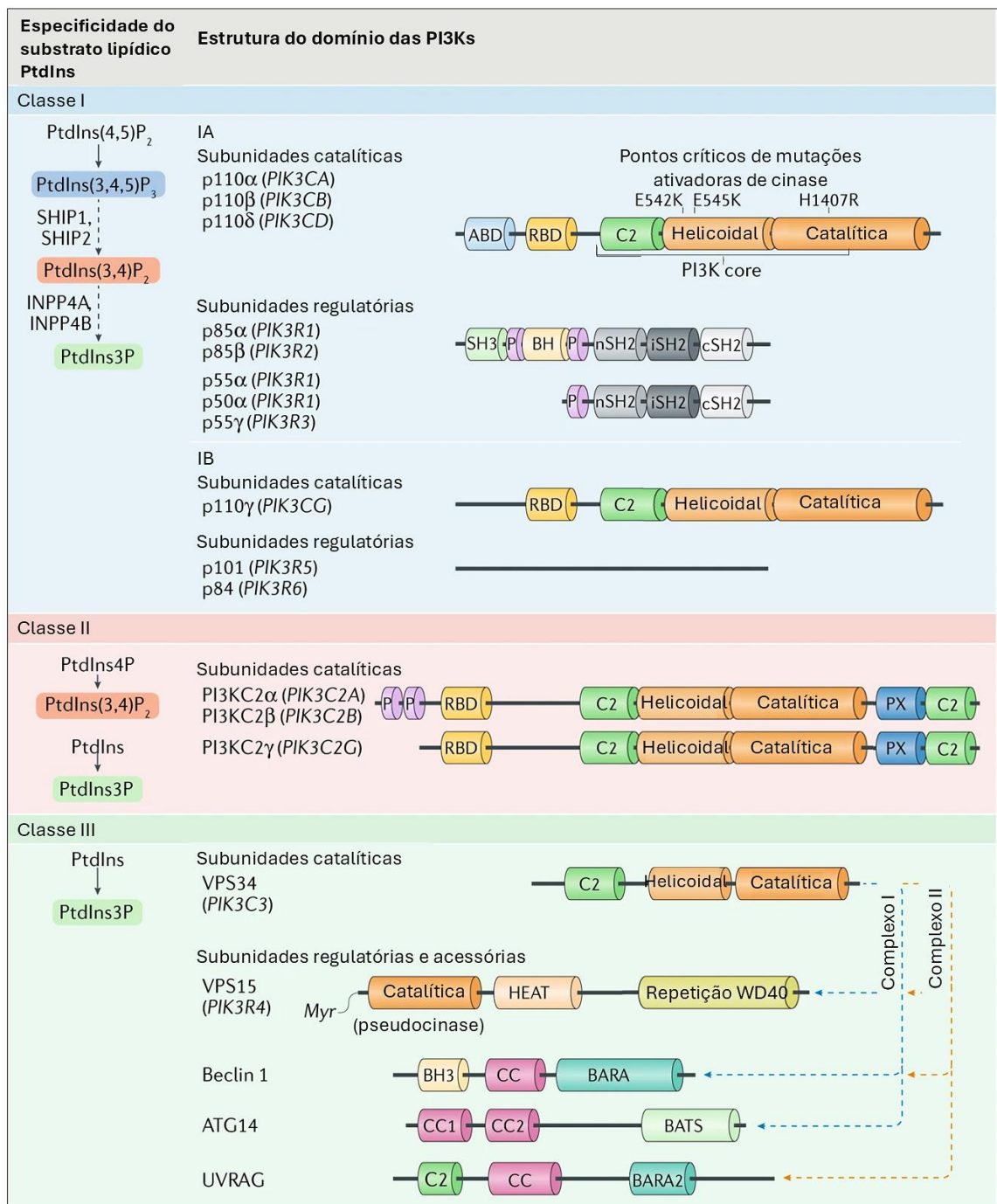
A GTPase Rheb é um regulador chave da atividade do mTORC1. Quando Rheb está no seu estado ativo, ligado ao GTP, estimula a atividade da quinase mTORC1, promovendo o crescimento celular. As GTPases Rag desempenham um papel no recrutamento do mTORC1 para a superfície lisossomal, onde pode ser ativado por Rheb em resposta à disponibilidade de aminoácidos. Fatores de crescimento, como a insulina e o fator de crescimento semelhante à insulina 1 (IGF-1), podem ativar a sinalização do mTORC1 por meio da via PI3K/Akt (LIU; SABATINI, 2020).

O mTORC2 é ativado por fatores de crescimento e regula a sobrevivência celular e a organização do citoesqueleto. Em resposta aos fatores de crescimento, o aumento da sinalização PI3K promove a ativação do mTORC2. Essa ativação leva à fosforilação da Akt na posição Ser473 pelo mTORC2, que ocorre após a ativação da PI3K. A fosforilação de Akt em Ser473 é frequentemente utilizada como um marcador da ativação do mTORC2 em estudos experimentais (SZWED; KIM; JACINTO, 2021). Há uma intercomunicação entre mTORC1 e mTORC2, com ciclos de feedback que podem influenciar a atividade de ambos os complexos. O mLST8 é um componente do mTORC2 que desempenha um papel na sua montagem e função. A desregulação do mLST8 pode inibir seletivamente a atividade do mTORC2. Embora todos os mecanismos de regulação da mTOR não sejam completamente compreendidos, esses são os principais processos regulatórios dos complexos mTORC1 e mTORC2, cruciais para a ativação das funções e disfunções biológicas da mTOR (LIU; SABATINI, 2020).

3.2.1.2 Proteínas PI3K

As fosfoinositídeos 3-quinases (PI3K), caracterizadas na década de 1980, formam uma família de enzimas lipídio-quinases que fosforilam a 3-hidroxila dos fosfolípídeos do inositol. Em mamíferos, as PI3Ks existem em oito isoformas diferentes, as quais foram agrupadas em três classes (I, II e III), de acordo com suas características funcionais e estruturais. De modo geral, as PI3Ks de classe I funcionam na sinalização a jusante de receptores associados à membrana plasmática e pequenas GTPases, enquanto as PI3Ks de classe II e III são responsáveis principalmente pelo tráfego de membrana e regulam a sinalização de forma indireta. Outros estudos desenvolvidos na década de 1990 mostraram que níveis elevados de PI3Ks foram encontradas em células que sofreram ação de mitógenos, indicando a relação dessas proteínas com a proliferação de células oncogênicas, destacando sua relevância clínica (BILANGES; POSOR; VANHAESEBROECK, 2019; LO; ZHANG; VADAS; ROSKE *et al.*, 2022; WYMANN; PIROLA, 1998). Todas as classes de PI3Ks apresentam o núcleo PI3K conservado, composto pelo domínio C2, pelo domínio helicoidal e um domínio quinase, conforme mostrado na Figura 3.3.

Figura 3.3 – Domínios das isoformas PI3K e especificidade de seus substratos.



Legenda: Especificidade dos Substratos Lipídicos e Estruturas dos Domínios das PI3Ks. À esquerda, são mostrados os produtos secundários gerados pela desfosforilação sequencial de PtdIns(3,4,5)P₃ (PI(3,4,5)P₃) por SHIP1, SHIP2, INPP4A e INPP4B. À direita, as estruturas dos domínios das PI3Ks são apresentadas, com uma estrutura geral para proteínas altamente homólogas e a ausência de estruturas específicas nas subunidades reguladoras da classe IB. As subunidades reguladoras da classe IA são codificadas por PIK3R1, PIK3R2 e PIK3R3, enquanto VPS34 está presente em dois complexos multiproteicos, Complexo I e Complexo II.

Fonte: Adaptado de Bilanges (2019).

A ativação e regulação das PI3Ks da classe I são desencadeadas por sinais extracelulares transmitidos por receptores com atividade intrínseca² da proteína tirosina quinase, GTPases ou receptores ligados à proteína G³(GPCRs). Os substratos dessa classe consistem em PI (fosfatidilinositol) e PI(4,5)P₂ (fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato). Por sua vez, a classe II de PI3Ks utiliza como substratos PI e PI4P, e não conta com unidades reguladoras bem definidas na literatura. A classe III possui o PI como substrato e é regulada pelo domínio helicoidal e quinase da subunidade VPS34 (BILANGES; POSOR; VANHAESEBROECK, 2019; BURKE, 2018; WYMANN; PIROLA, 1998).

Considerando o atual estado da arte, as enzimas PI3Ks da classe I têm sido amplamente exploradas devido à sua associação cada vez mais evidente com o câncer. Por esse motivo, este estudo concentra-se especificamente nessa classe de enzimas. A classe I é subdividida em classe IA e IB, que diferem em suas subunidades catalíticas e reguladoras (Figura 3.3). As subunidades catalíticas da classe IA formam complexos com a unidade reguladora p85, resultando nas isoformas p110 α , p110 β e p110 δ . A classe IB possui a subunidade catalítica p110 γ , que se acopla às unidades reguladoras p84 ou p101. A interação das subunidades reguladoras com suas respectivas subunidades catalíticas forma heterodímeros (p85-p110 ou p84-p110), que permanecem inativos até serem recrutados para a membrana plasmática. O recrutamento da classe IA ocorre pela ligação dos domínios SH2 e p85 a receptores de tirosina quinase ou outras proteínas de membrana fosforiladas. Já o recrutamento da classe IB é mediado pelas subunidades G $\beta\gamma$ liberadas pelos GPCRs ativados. Esse recrutamento leva à ativação das enzimas, permitindo sua associação com seus respectivos substratos lipídicos na membrana (BILANGES; POSOR; VANHAESEBROECK, 2019; VANHAESEBROECK; PERRY; BROWN; ANDRÉ *et al.*, 2021).

Esses complexos heterodiméricos são referidos como PI3K α , PI3K β , PI3K γ e PI3K δ , com p110 α , p110 β , p110 γ e p110 δ indicando as subunidades catalíticas correspondentes. Enquanto p110 α e p110 β apresentam uma ampla distribuição tecidual, p110 γ e p110 δ são encontrados em altas concentrações em todos os subtipos de leucócitos. Ademais, níveis baixos, mas funcionalmente relevantes de p110 γ e p110 δ também estão presentes em células não leucocitárias (VANHAESEBROECK; PERRY; BROWN; ANDRÉ *et al.*, 2021).

² A atividade intrínseca refere-se à capacidade inerente de proteína/enzima realizar uma ação ou função específica sem influências externas.

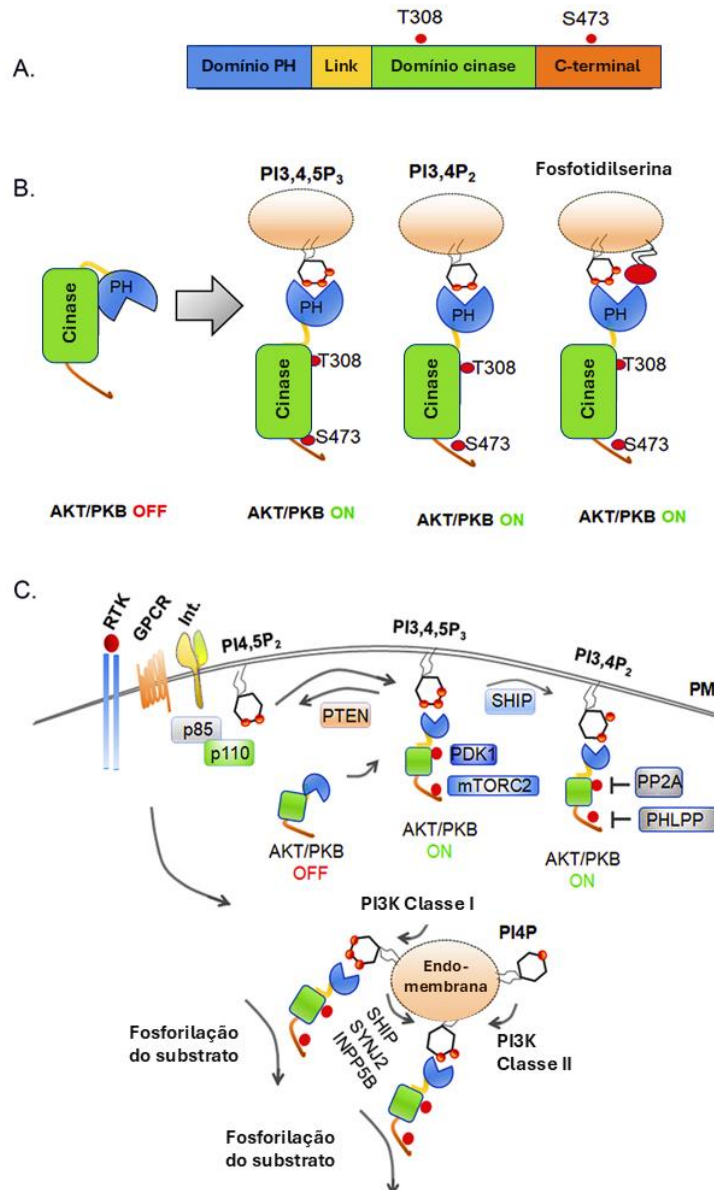
³ Proteínas G são moléculas intracelulares que atuam como transdutores de sinal nas vias de sinalização celular. Elas se ligam a nucleotídeos de guanina (GDP e GTP) e são ativadas por receptores acoplados à proteína G (GPCRs) na membrana celular.

3.2.1.3 Proteínas Akt

A proteína quinase B, também conhecida como Akt ou PKB, é uma serina/treonina quinase da família AGC caracterizada na década de 1980. A Akt possui três isoformas: Akt1 (PKB α), Akt2 (PKB β) e Akt3 (PKB γ), que são estruturalmente semelhantes, mas funcionalmente distintas. Akt1 está presente em todos os tecidos, enquanto Akt2 e Akt3 são isoformas importantes nos tecidos sensíveis à insulina e no cérebro, respectivamente. Todas as isoformas contêm um domínio de homologia pleckstrina (PH) na extremidade N-terminal, um domínio central de quinase e um domínio regulador C-terminal com um motivo hidrofóbico (HM). Em condições não estimuladas, fortes interações hidrofóbicas entre o domínio PH e o domínio quinase mantêm a enzima em uma conformação fechada e inativa no citosol. Nesta conformação, o domínio PH e a alça de ativação no domínio de quinase não interagem com receptores e substratos proteicos. A conformação ativa Akt é dependente de alterações conformacionais que requerem a fosforilação de um resíduo de treonina (Thr) no domínio de quinase e de um resíduo de serina (Ser) no motivo hidrofóbico, localizados em posições distintas em cada isoforma: T308, T309 e T305 (treonina) e S473, S474 e S472 (serina) em Akt1, Akt2 e Akt3, respectivamente. As conformações ativas e inativas da Akt estão exemplificadas na Figura 3.4 (BASU; LAMBRING, 2021; CHU; VIENNET; BAE; SALGUERO *et al.*, 2020; HANADA; FENG; HEMMINGS, 2004; MANNING; TOKER, 2017; THAPA; HORN; ANDERSON, 2019).

A ativação completa da Akt requer a fosforilação dos resíduos de Thr e Ser, correspondentes a cada isoforma. A ativação das enzimas PI3K de classe I por estímulos vindos da membrana plasmática, desencadeiam a produção dos mensageiros lipídicos PI(3,4,5)P₃ e PI(3,4)P₂ na membrana plasmática, onde um deles se liga ao domínio PH da Akt e a recruta para a membrana. A PDK1, enzima crucial envolvida na via de sinalização PI3K/Akt, também possui um domínio PH, responsável por seu recrutamento à membrana junto com a Akt. Como resultado desta realocação, ocorre a fosforilação do regulador Thr na alça de ativação do domínio quinase pela PDK1. A fosforilação do resíduo de serina é mediada pela ação do complexo mTORC2 no domínio C-terminal. Outras proteínas quinases como a DNA-PK, PKC γ , IKK e MPK podem, eventualmente, substituir a ação do mTORC2. (BASU; LAMBRING, 2021; CHU; VIENNET; BAE; SALGUERO *et al.*, 2020; MANNING; TOKER, 2017; THAPA; HORN; ANDERSON, 2019).

Figura 3.4 – Ativação e regulação da Akt1 na membrana plasmática.



Legenda: A. Diagrama esquemático da AKT1/PKB1 mostrando seus domínios PH, quinase e C-terminal. B. Acoplamento do domínio PH a fosfoinosítídeos (PI3,4,5P₃ ou PI3,4P₂) ativa a AKT1/PKB1, permitindo sua fosforilação pela PDK1 e pelo mTORC2. C. Fosfoinosítídeos endossômicos sustentam a ativação da AKT1/PKB1 em vários compartimentos celulares.

Fonte: Adaptado de Thapa, Horn e Anderson (2019).

A inativação da Akt envolve principalmente processos de desfosforilação dos lipídios PI(3,4,5)P₃ e PI(3,4)P₂, por enzimas como PTEN. Além disso, a proteína fosfatase 2A (PP2A) e as proteínas fosfatases repetidas ricas em leucina (PHLPP) desempenham um papel direto na desfosforilação de resíduos específicos de Akt, encerrando sua ativação. Enquanto a conversão de PI(3,4,5)P₃ em PI(4,5)P₂ por enzimas como PTEN é essencial para reverter a

ativação de Akt, a conversão contínua de PI(3,4,5)P₃ em PI(3,4)P₂ por 5-fosfatases mantém a ativação de Akt/PKB. No entanto, a ação das 4-fosfatases, como INPP4A e INPP4B, que convertem PI(3,4)P₂ em PI3P nas membranas endossômicas, juntamente com a desfosforilação pela PP2A e PHLPP dos resíduos de Akt, encerra definitivamente a ativação da Akt. Esses processos garantem um controle preciso da sinalização da Akt, essencial para manter o equilíbrio celular (BASU; LAMBRING, 2021; MANNING; TOKER, 2017; THAPA; HORN; ANDERSON, 2019).

Os principais substratos das três isoformas de Akt ativas, incluem quinases de proteínas, quinases de lipídios, fatores de transcrição, pequenos reguladores de proteínas G, enzimas metabólicas, ligases de ubiquitina E3, reguladores do ciclo celular e do tráfego de vesículas. Entre os substratos mais estudados estão a família FOXO de fatores transcricionais, as glicogênio sintase quinases GSK3 α /GSK3 β e o complexo TSC inibidor de mTORC1. Estes substratos desempenham papéis cruciais em funções celulares como crescimento, sobrevivência, diferenciação e metabolismo, dependendo da localização específica de cada isoforma (MANNING; TOKER, 2017; THAPA; HORN; ANDERSON, 2019).

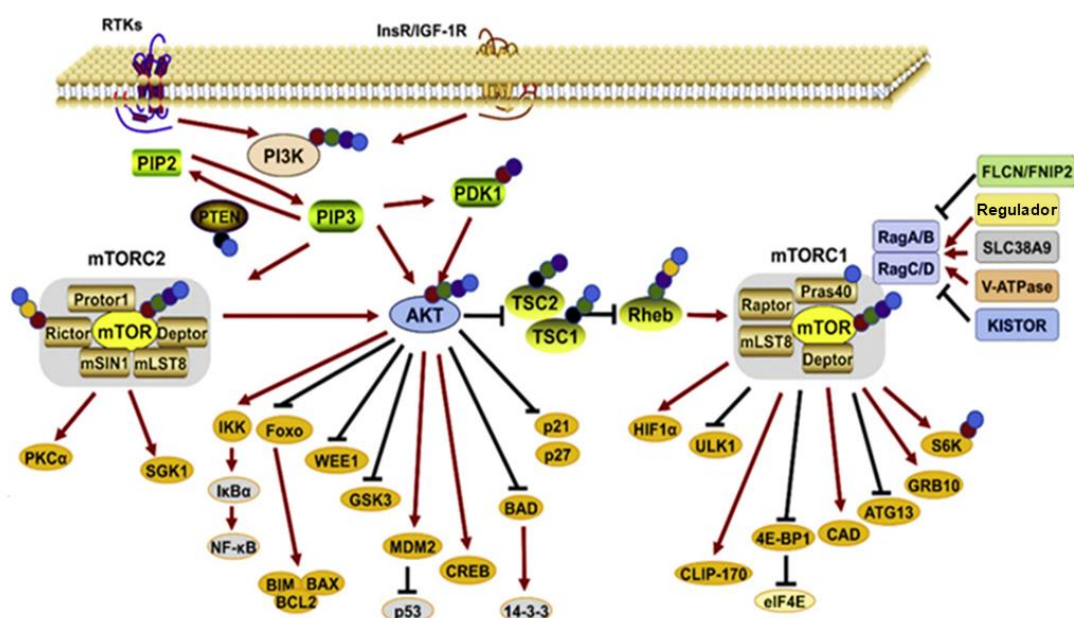
3.2.2 Função e regulação da atividade da via PI3K/Akt/mTOR

A via de sinalização PI3K/Akt/mTOR trata de um mecanismo essencial e complexo, onde estima-se que mais de 150 proteínas estejam envolvidas. Suas principais funções no organismo estão relacionadas ao ciclo celular, sobrevivência celular, inflamações, metabolismo de glicose e lipídeos e apoptose (SUN; LUO; GUO; YAO et al., 2020). Além disso, essa via desempenha um papel crítico na regulação da síntese proteica e no crescimento celular, respondendo a sinais extracelulares, como fatores de crescimento e nutrientes. A disfunção dessa via tem sido associada a várias doenças, incluindo câncer, diabetes, doenças cardiovasculares e distúrbios neurodegenerativos, destacando sua importância na manutenção da homeostase celular e na resposta a estresses fisiológicos e ambientais (ROY; BOATENG; UDDIN; BANANG-MBEUMI *et al.*, 2023; SHARMA; MEHAN, 2021; WIESE; BARCZUK; RACINSKA; SIWECKA *et al.*, 2023).

A sinalização da via PI3K/Akt/mTOR, como demonstrado na Figura 3.5, é iniciada quando receptores de tirosina quinase (RTKs) ou receptores acoplados à proteína G (Ins/GF-1R), em um processo de regulação positiva, ativam a enzima PI3K. Esta enzima converte o fosfolipídio PI(4,5)P₂ em PI(3,4,5)P₃, agindo como um mensageiro secundário que facilita a fosforilação da Akt. Uma vez ativada, a Akt desempenha um papel essencial no crescimento

celular, sobrevivência e metabolismo, ao fosforilar diversos substratos proteicos a jusante, incluindo a TSC2 (tuberina). A fosforilação da TSC2 por Akt reduz a inibição sobre a GTPase Rheb, permitindo que Rheb ative o complexo mTORC1 no lisossomo. A ativação subsequente de mTORC1 regula uma série de processos celulares, como a síntese proteica, de nucleotídeos e lipídica, além de suprimir a autofagia por meio da fosforilação de proteínas-alvo como S6K, 4EBP1, CAD, Lipin1 e ULK1 (MAINES; FRANCESCHI; MARTINELLI; SOLI *et al.*, 2021; WIESE; BARCZUK; RACINSKA; SIWECKA *et al.*, 2023; YU; WEI; LIU, 2022).

Figura 3.5 – Visão geral da via de sinalização PI3K/Akt/mTOR.



Legenda: A ativação dos RTKs por fatores de crescimento recruta PI3K para a membrana plasmática, gerando PI(3,4,5)P3, que ativa Akt via PDK1 e mTORC2. Akt promove a progressão do ciclo celular e outros processos por meio da fosforilação de substratos, como TSC2, que alivia a supressão sobre Rheb e ativa o mTORC1 no lisossomo. O mTORC1 é também regulado por aminoácidos e sensores específicos e promove a tradução de proteínas, síntese de nucleotídeos, e suprime a autofagia.

Fonte Adaptado de Yu, Wei e Liu (2022).

Tendo em vista que a desregulação desta via está relacionada a diversas doenças e distúrbios, o seu mecanismo de inibição e regulação negativa são especialmente importantes. Um tipo fundamental de regulação negativa é exercido pelo complexo TSC1-TSC2. A proteína TSC2 atua como uma GAP (*GTPase-activating protein*) que inibe a atividade da proteína Rheb, convertendo-a de sua forma ativa (Rheb-GTP) para sua forma inativa (Rheb-GDP). Isso impede a ativação de mTORC1 pelo Rheb-GTP e consequentemente de suas

funções. Além disso, as fosfatases, como o PTEN, podem desempenhar um papel importante na regulação negativa da via, convertendo o fosfolípido PIP3 de volta em PIP2, antagonizando a ativação da via PI3K/Akt. Esses mecanismos de regulação negativa garantem que a atividade da via PI3K/Akt/mTOR seja mantida em níveis apropriados (ALVES; DITZEL, 2023; YU; WEI; LIU, 2022).

3.3 Patologias relacionadas à sinalização e regulação da via PI3K/Akt/mTOR

3.3.1 Sinalização no câncer

Zhengzheng Deng e colaboradores (2024) desenvolveram uma análise bibliométrica abrangente com o objetivo de examinar o estado atual da pesquisa relacionada à via PI3K/Akt/mTOR no câncer. O estudo abrangeu o período entre 2006 e 2023, identificando um total de 5.800 artigos provenientes de 95 países, evidenciando um aumento progressivo no número de publicações a cada ano (DENG; QING; HUANG, 2024). A importância desta via na oncologia é amplamente reconhecida devido às evidências clínicas e científicas que demonstram que sua superativação está ligada ao desenvolvimento de diferentes tumores sólidos, assim como a desregulação de seus componentes-chave também está relacionada à diversos tipos de câncer. A via de sinalização PI3K/Akt/mTOR está envolvida em processos que governam e controlam o câncer como mutações, proliferação celular, autofagia, angiogênese e transição epitelial-mesenquimal (GUERRERO-ZOTANO; MAYER; ARTEAGA, 2016; PRABHU; KUTTIKRISHNAN; MARIYAM; HABEEBA *et al.*, 2025; RAJENDRAN; SEKAR; DHAYASANKAR; ALI *et al.*, 2024).

Mutações no gene *PIK3α*, presentes em cerca 11 a 14% dos casos de câncer, são prevalentes em diversos tipos da doença, incluindo câncer de mama, carcinoma endometrial e carcinoma colorretal. Essas mutações ocorrem principalmente nos domínios hélice (E542/E545) e quinase (H1047), promovendo a sobrevivência celular e a transformação tumoral (MARTÍNEZ-SÁEZ; CHIC; PASCUAL; ADAMO *et al.*, 2020). A proteína mTOR frequentemente sofre mutações em casos de carcinoma endometrial, melanoma e câncer de bexiga. Essas mutações aumentam a atividade quinase da mTOR, ativando vias que promovem a proliferação celular de células cancerígenas (ZHANG; NG; KUCHERLAPATI; CHEN *et al.*, 2017). Akt1, Akt2 e Akt3 são mutadas em cerca 1,4 a 2% dos casos de câncer. A mutação específica E17K no gene Akt1, especialmente comum em câncer de mama, facilita a ativação oncogênica de Akt, enquanto Akt2 e Akt3 são frequentemente ativados por

amplificação, contribuindo para a progressão tumoral e resistência a tratamentos (CHEN; HUANG; DONG; TAO *et al.*, 2020; PENG; WANG; ZHOU; MEI *et al.*, 2022).

A proliferação celular, frequentemente associada ao câncer, está diretamente relacionada à via de sinalização PI3K/Akt/mTOR. Os complexos mTORC1 e mTORC2 controlam diversas atividades celulares. O mTORC1 regula a fosforilação de efetores de tradução, como S6K1 e 4E-BP1, promovendo o crescimento e a proliferação celular, enquanto o mTORC2 controla a sobrevivência e proliferação celular por meio da fosforilação de Akt (MANGÉ; COYAUD; DESMETZ; LAURENT *et al.*, 2019). A ativação desses complexos é mediada por nutrientes, hormônios e fatores de crescimento. A glicogênio sintase quinase-3 beta (GSK3) também regula a proliferação celular, modulando proteínas como a ciclina D1 (EVANGELISTI; CHIARINI; PAGANELLI; MARMIROLI *et al.*, 2020). A interação entre GSK3 e mTORC1 aumenta a atividade da proteína p70S6K1, favorecendo a proliferação celular. Por outro lado, a regulação negativa de RICTOR, componente do mTORC2, diminui a proliferação celular, aumenta a parada do ciclo celular e induz a apoptose (LU; SHI; GONG; LI *et al.*, 2020; PENG; WANG; ZHOU; MEI *et al.*, 2022).

A autofagia é um processo crucial de reciclagem celular que degrada proteínas e organelas danificadas. Neste contexto, a desregulação da via PI3K/Akt/mTOR inibe a autofagia, o que pode ter implicações no desenvolvimento do câncer. A ativação de mTORC1 suprime a autofagia por meio da fosforilação de ULK1 e TFEB. Além disso, a ativação da Akt pelo mTORC2 e pelas PI3Ks de classe I inibe ainda mais a autofagia. Em contraste, a AMPK, ativada por baixos níveis de energia, pode inibir o mTORC1 e aumentar a autofagia. Outras vias de sinalização, como MEK/ERK, e proteínas como PTEN e Gαq também regulam a autofagia, influenciando a atividade do mTORC1 (AL-BARI; XU, 2020; PENG; WANG; ZHOU; MEI *et al.*, 2022).

A angiogênese é a formação de novos vasos sanguíneos, essencial para o crescimento e metástase do câncer. A via PI3K/Akt/mTOR regula a angiogênese por meio da produção de fatores de crescimento endotelial vascular (VEGF). A ativação de mTOR aumenta a angiogênese, enquanto a sua inibição pode prevenir o crescimento de novos vasos sanguíneos (LUGANO; RAMACHANDRAN; DIMBERG, 2020). Ademais, a via PI3K//mTOR está intimamente associada à transição epitelial-mesenquimal (EMT), um processo no qual células epiteliais adotam características mesenquimais, como maior capacidade de migração e invasão celular. A ativação de Akt durante a EMT reduz a expressão da proteína E-caderina e promove a atividade de fatores de transcrição como Snail, ZEB e Twist, que reprimem genes epiteliais e ativam genes mesenquimais, facilitando a invasão e metástase. A mTORC2

desempenha um papel importante na modulação do citoesqueleto de actina, promovendo mudanças na forma e na motilidade celular, contribuindo assim para a progressão e agressividade do câncer (HERRERIAS; BUDINGER, 2020; PENG; WANG; ZHOU; MEI *et al.*, 2022).

3.3.2 Sinalização em desordens metabólicas

A via de sinalização PI3K/Akt/mTOR está intimamente envolvida na regulação de processos metabólicos-chave, como homeostase da glicose, metabolismo lipídico e síntese de proteínas. A desregulação dessa via pode levar à resistência à insulina, acúmulo anormal de lipídios e metabolismo da glicose prejudicado, contribuindo para o desenvolvimento de desordens metabólicas, principalmente obesidade e diabetes tipo 2 (MIAO; FANG; WEI; WU *et al.*, 2022; WANG; SHI; CONG; HAO *et al.*, 2022) .

No contexto da obesidade, a via PI3K/Akt está envolvida na promoção da lipogênese, o processo de síntese de gorduras. A superativação dessa via pode aumentar a síntese e o armazenamento lipídico, agravando a obesidade. Além disso, a desregulação da via PI3K/Akt pode levar à resistência à insulina, onde as células se tornam menos responsivas aos sinais da insulina. A resistência à insulina é um fator chave no desenvolvimento da obesidade, pois perturba o metabolismo da glicose e dos lipídios. No tecido adiposo, essa via também regula a diferenciação dos adipócitos e o metabolismo lipídico. Sua desregulação pode resultar em função anormal do tecido adiposo, contribuindo ainda mais para a obesidade (HUANG; LIU; GUO; SU, 2018; MIAO; FANG; WEI; WU *et al.*, 2022).

Em relação ao diabetes mellitus tipo 2 (DM2), a sinalização prejudicada da insulina por meio da via PI3K/Akt eleva os níveis de glicose no sangue devido à diminuição da captação de glicose em tecidos sensíveis à insulina, como músculo e tecido adiposo. A via PI3K/Akt também regula a função das células beta pancreáticas e a secreção de insulina. A desregulação desta via pode prejudicar a secreção de insulina, contribuindo para o desenvolvimento do DM2. Além disso, no DM2, a desregulação da via PI3K/Akt pode aumentar a gliconeogênese hepática, processo pelo qual o fígado produz glicose, elevando ainda mais os níveis de glicose no sangue (HUANG; LIU; GUO; SU, 2018; WANG; SHI; CONG; HAO *et al.*, 2022).

3.3.3 Sinalização em doenças neurológicas

A via PI3K/Akt/mTOR está associada a doenças neurodegenerativas por seu papel na regulação da sobrevivência neuronal, autofagia e função sináptica. A supressão da atividade da mTOR, que induz a autofagia, é considerada um mecanismo coordenado de neuroproteção. A interrupção da autofagia, frequentemente associada à desregulação desta via, pode resultar em características histopatológicas dessas doenças. A falha no feedback negativo da via PI3K/Akt/mTOR pode levar à morte celular. Por exemplo, a inibição da sinalização de proteção celular PI3K/Akt compromete o crescimento celular e aumenta a autofagia, enquanto a inibição da via S6K/IRS eleva a atividade da mTOR, prejudicando a autofagia e promovendo o acúmulo de proteínas tóxicas. Para doenças neurodegenerativas com déficits cognitivos, a regulação adequada da via PI3K/Akt/mTOR é crucial para a atividade sináptica e funções neuronais normais. A desregulação desta via pode desencadear e agravar essas doenças, especialmente Parkinson e Alzheimer (RAI; DILNASHIN; BIRLA; SINGH *et al.*, 2019; XU; NA; LI; CHEN, 2020).

A via PI3K/Akt/mTOR é crucial na doença de Parkinson (DP), uma neurodegeneração caracterizada pelo surgimento de sintomas motores e não motores. Estudos mostram que Akt e Akt fosforilada estão reduzidas na substância negra pars (uma região específica do cérebro) compacta de pacientes com DP (LUO; KANG; WANG; LIU *et al.*, 2019). A ativação dessa via promove a sobrevivência e o crescimento dos neurônios dopaminérgicos, inibindo a apoptose e prevenindo a progressão da doença. Além disso, Akt inibe a GSK-3beta, cuja regulação anormal contribui para a DP. A via PI3K/Akt/mTOR também afeta o estresse oxidativo por meio de moléculas sinalizadoras a jusante, como FoxO3a. Quando há expressão anormal do gene Parkin, a interrupção da via PI3K/Akt/FoxO3a desequilibra o estresse oxidativo, contribuindo para a DP (JIA; MO; FENG; ZHAN *et al.*, 2014). Ademais, níveis reduzidos de mTOR são identificados nos cérebros de pacientes com DP, embora se saiba que a via PI3K/Akt/mTOR exerce um efeito protetor nos neurônios (WANG; TIAN; RUAN; WEI *et al.*, 2024; XU; NA; LI; CHEN, 2020).

A doença de Alzheimer (DA) é uma doença neurodegenerativa caracterizada pelo comprometimento da memória, agnosia, dificuldades viso-espaciais, disfunção executiva e alterações de personalidade e comportamento. A proteína Tau, essencial para a integridade estrutural dos neurônios, sofre superfosforilação e agregação anormal na DA, resultando em instabilidade dos microtúbulos, formação de emaranhados neurofibrilares (NFT) e morte neuronal. A via PI3K/Akt/mTOR é crucial na fosforilação da proteína Tau. Quando ativada

por PI3K-PDK1, a proteína AKT fosforila a Tau, o distúrbio dessa via pode aumentar a atividade de GSK-3beta, promovendo a hiperfosforilação de Tau e a formação de NFT. Ademais, a proteína beta-amiloide (A β), principal componente das placas senis, interage com essa via. Essa interação promove sua inibição, induzindo neurotoxicidade e intensificando a hiperfosforilação da Tau (GIACOPPO; BRAMANTI; MAZZON, 2017; XU; NA; LI; CHEN, 2020).

3.3.4 Sinalização em doenças inflamatórias

A via PI3K/Akt/mTOR desempenha um papel crucial em várias doenças inflamatórias, incluindo dermatite atópica (DA), colite ulcerativa (UC) e psoríase. Na DA, uma condição inflamatória crônica, essa via regula respostas imunes, como a ativação de células Th1 e Th2, que afetam a expressão da filagrina nos queratinócitos. As células Th2 ativam linfócitos B e mastócitos, enquanto as células Th1 mantêm a fase crônica da doença. A sinalização mTOR regula negativamente a expressão de Foxp3, influenciando a função das células T reguladoras Foxp3+, que controlam a progressão da DA. A atividade reduzida de AKT1 na DA está associada à diminuição da expressão de proteases e filagrina, prejudicando a função de barreira cutânea e contribuindo para lesões cutâneas inflamatórias. (ROY; BOATENG; UDDIN; BANANG-MBEUMI *et al.*, 2023).

Em pacientes com colite ulcerativa, uma doença inflamatória intestinal, foi observada a ativação aberrante da via PI3K/Akt/mTOR, levando a expressões aumentadas de citocinas pró-inflamatórias (DONG; DU; ZHANG; XU *et al.*, 2022). A psoríase é uma doença inflamatória crônica comum da pele. Sua patogênese não foi completamente elucidada, entretanto a via PI3K/Akt/mTOR foi identificada como uma via de sinalização chave nessa doença. Estudos sugerem que a superexpressão da via PI3K/Akt/mTOR pode desempenhar um papel importante na patogênese da psoríase, mediando a patogênese imunológica, a hiperplasia epidérmica e/ou a angiogênese na doença (HUANG; UN; MENG; LIN, 2014).

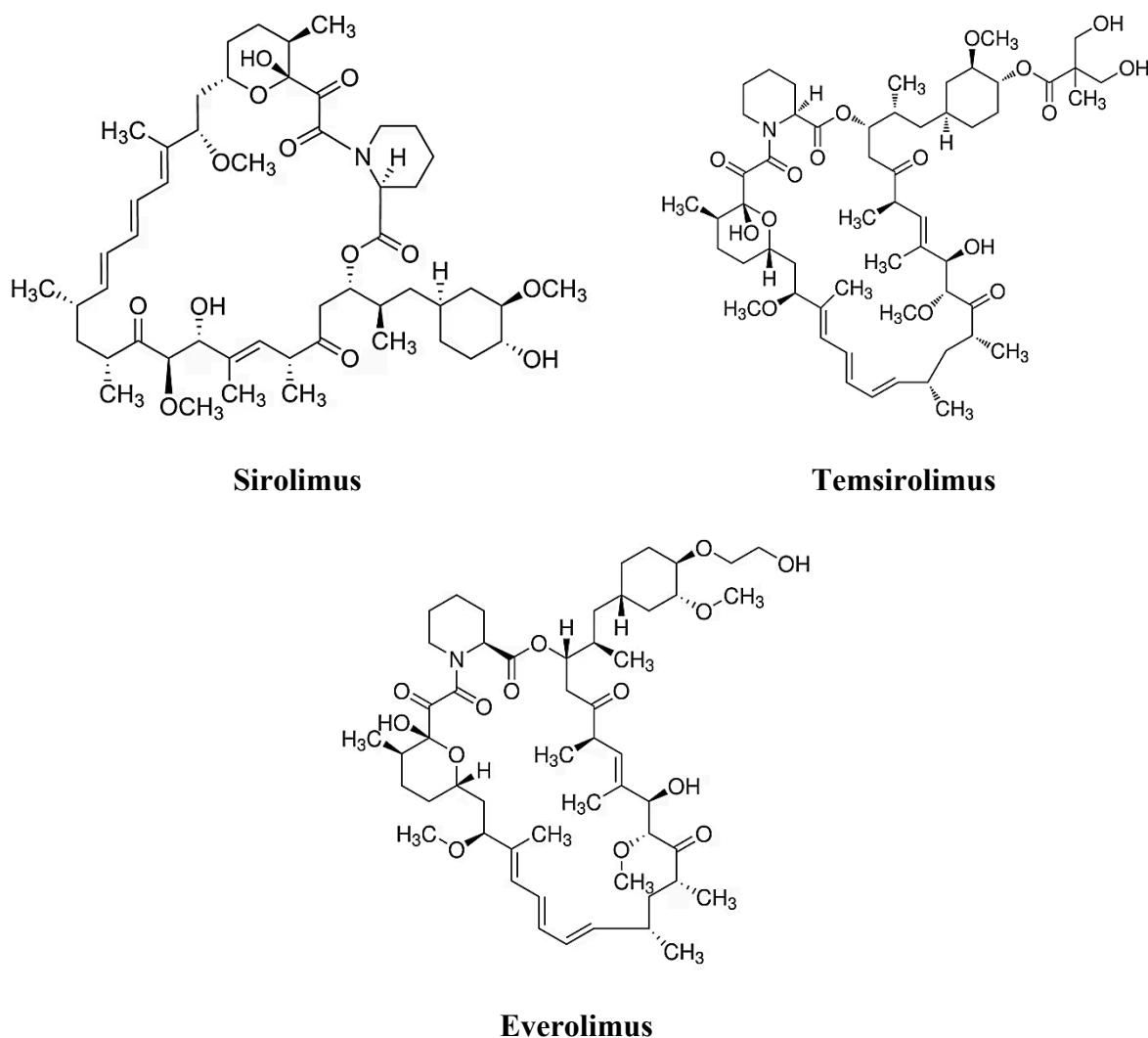
3.4 Inibidores da via PI3K/Akt/mTOR em doenças humanas

3.4.1 Inibidores de primeira geração

Os inibidores de primeira geração são classificados dessa forma por terem sido os primeiros a serem desenvolvidos, geralmente direcionados à PI3K de maneira não específica e

ao complexo mTORC1. Exemplos desses inibidores incluem Wortmannin e LY294002, que são direcionados à PI3K (ARCARO; WYMAN, 1993; VLAHOS; MATTER; HUI; BROWN, 1994). Para o complexo mTORC1, os inibidores incluem a rapamicina, comercializada como Sirolimus (Rapamune®), e seus derivados Temsirolimus (Torisel®), Everolimus (Afinitor®/Zortress®) que atuam por inibição alostérica, mostrados na Figura 3.6 (POPOVA; JÜCKER, 2021). Embora esses inibidores tenham sido importantes para entender a via PI3K/Akt/mTOR, eles apresentaram limitações significativas, como alta toxicidade, baixa especificidade e a capacidade de induzir resistência nas células tratadas (DAVOODI-MOGHADDAM; JAFARI-RADDANI; DELSHAD; POURBAGHERI-SIGAROODI *et al.*, 2023).

Figura 3.6 – Estrutura química dos inibidores de primeira geração comerciais da enzima mTOR.



Fonte: do autor (2025).

3.4.2 Inibidores de segunda geração

Os inibidores de segunda geração da via PI3K/Akt/mTOR foram desenvolvidos com o propósito de aprimorar sua seletividade, o que resulta em maior eficácia terapêutica e redução concomitante da toxicidade em comparação com os de primeira geração. Estruturalmente, distinguem-se por apresentarem esqueletos heterocíclicos mais elaborados e otimizados, em contraste com os compostos maiores e menos seletivos da primeira geração. Esses avanços representam uma evolução promissora no campo terapêutico, pois sugere-se que tais agentes possuam uma relação mais vantajosa entre eficácia e toxicidade, destacando-os como candidatos de relevo no tratamento de diversas patologias, especialmente o câncer (CHEN; ZHOU, 2020).

Os inibidores pan-PI3K têm sido desenvolvidos com o objetivo de bloquear a atividade das quatro isoformas da classe I (PI3K α , PI3K β , PI3K γ e PI3K δ) e foram testados clinicamente em tumores com ativação da via PI3K-/PTEN. Exemplos como Pictilisibe, Buparlisibe e Pilaralisibe já alcançaram ensaios clínicos de fase I ou II, mas ainda não são comercializados. No entanto, a eficácia pode variar conforme as mutações em PI3K ou perdas de PTEN, bem como o perfil de toxicidade de cada composto (DAVOODI-MOGHADDAM; JAFARI-RADDANI; DELSHAD; POURBAGHERI-SIGAROODI *et al.*, 2023; SIRICO; D'ANGELO; GIANNI; CASADEI *et al.*, 2023).

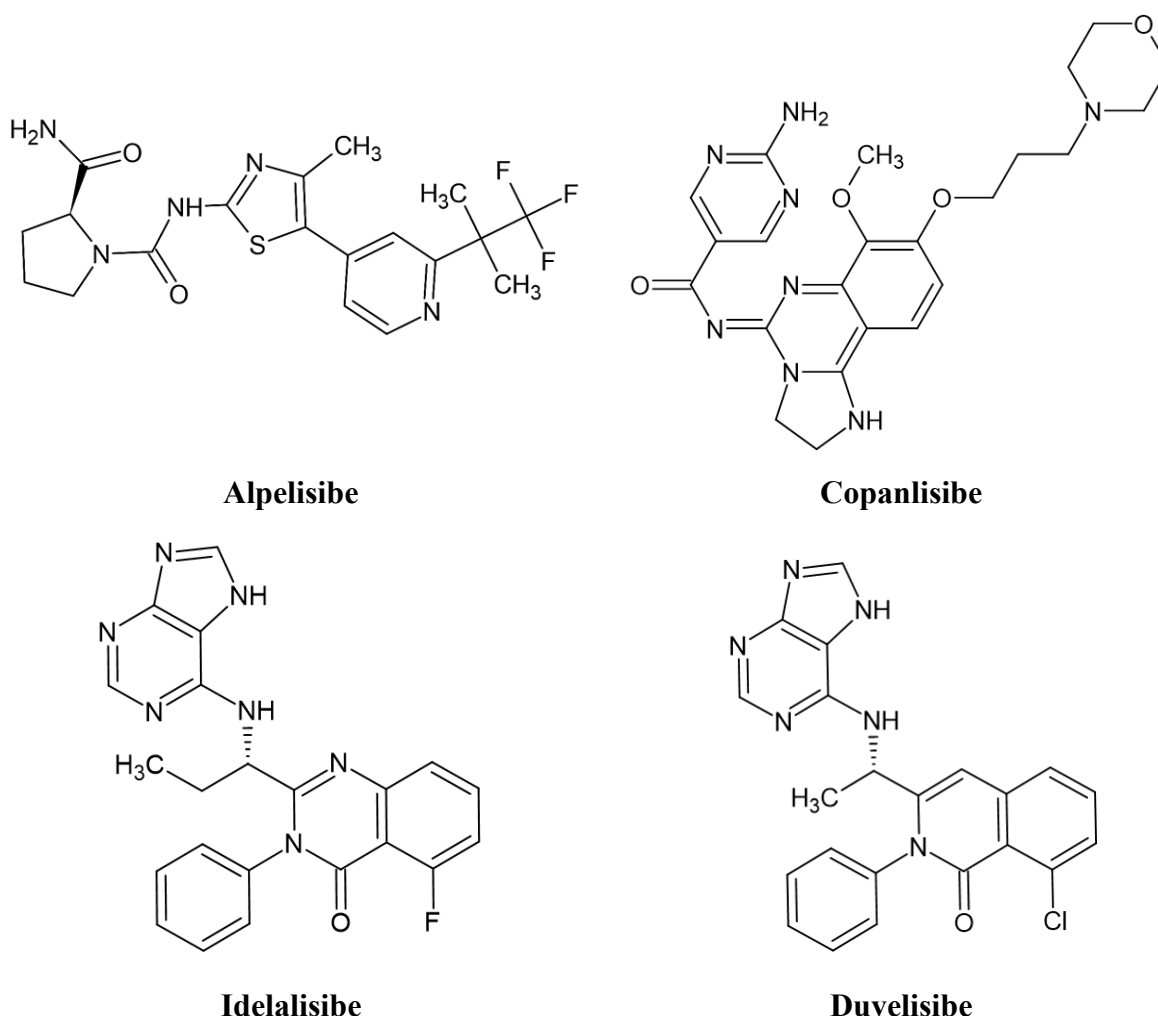
Com o objetivo de alcançar modificações específicas na via sem provocar toxicidade cumulativa resultante da inibição de múltiplas isoformas, foram desenvolvidos inibidores específicos. Em virtude de sua alta seletividade, esses inibidores podem demonstrar eficácia particular em tumores que apresentam determinadas alterações moleculares. Além disso, a inibição de uma isoforma específica da PI3K pode resultar em um perfil de toxicidade distinto em comparação com a inibição Pan-PI3K. Na Figura 3.7 estão dispostos os fármacos comerciais Alpelisibe (Piqray®, PI3K α), Copanlisibe (Aliqopa®, PI3K α e PIK δ), Idelalisibe (Zydelig®, PI3K δ) e Duvelisibe (Copiktra®, PI3K γ e PI3K δ) que atuam como inibidores específicos de isoformas da PI3K (BERGAMINI; BELL; SHIMAMURA; WERNER *et al.*, 2012; BÉDARD; DAVIES; KOPETZ; JURIC *et al.*, 2018; DAVOODI-MOGHADDAM; JAFARI-RADDANI; DELSHAD; POURBAGHERI-SIGAROODI *et al.*, 2023; DE VERA; GUPTA; LEI; LIAO *et al.*, 2019; HERKO; MAVIS; CZUCZMAN; HERNANDEZ, 2012; LOIBL; REINISCH; DENKERT; FASCHING *et al.*, 2022; MATEO; GANJI; LEMECH; BURRIS *et al.*, 2017; SIRICO; D'ANGELO; GIANNI; CASADEI *et al.*, 2023; SMITH; GOPAL, 2021; YANG; WANG; ZHAN; XIA *et al.*, 2015).

Diferentes inibidores de Akt, incluindo AZD5363, ipatasertib, afuresertib, uprosertib, MK-2206, Miransertib e GSK690693, estão em diferentes estágios de ensaios clínicos. A maioria desses agentes liga-se ao domínio catalítico das enzimas, inibindo simultaneamente todas as três isoformas da Akt (inibidores pan-Akt). No entanto, também foram desenvolvidos inibidores alostéricos para obter maior seletividade para uma ou mais isoformas de Akt. Por exemplo, o BAY1125976 é um inibidor alostérico com maior especificidade para as isoformas Akt1 e Akt2. A vantagem dos inibidores específicos de Akt para cada isoforma em relação aos inibidores pan-Akt ainda não foi estabelecida clinicamente (BROWN; BANERJI, 2017; HALDER; CORDEIRO, 2021; NARAYAN; FEDRIGO; BRANDS; DIK *et al.*, 2017; SONG; BODE; DONG; LEE, 2019; XU; NA; LI; CHEN, 2020).

Na segunda geração de inibidores da mTOR, foram desenvolvidos compostos que visam inibir a atividade tanto do mTORC1 quanto do mTORC2. Nesse contexto, o foco está em inibidores que competem com o ATP pelo sítio ativo da mTOR, como PP242, Torin1 e Torin2. Esses compostos ainda se encontram em fase de investigação clínica e não possuem representantes aprovados para uso terapêutico. Esses inibidores, ao contrário dos análogos da rapamicina, bloqueiam efetivamente tanto o mTORC1 quanto o mTORC2, evitando assim a fosforilação da Akt pelo mTORC2 e a resistência observada com os análogos da rapamicina (HE; SUN; ZHANG; YANG *et al.*, 2021).

No contexto do desenvolvimento de terapias alvo, os inibidores duais de PI3K/mTOR são considerados altamente promissores. Compostos ainda em investigação, como Dactolisib (NVP-BEZ235), PI-103, Apatolisib (GDC-0980) e Gedatolisib, destacam-se por sua capacidade de inibir simultaneamente PI3K e mTOR, atuando diretamente nos sítios ativos de ambas as enzimas. Esse mecanismo resulta em uma inibição mais eficiente desta via de sinalização, bloqueando tanto as etapas iniciais quanto as posteriores da via (DAVOODI-MOGHADDAM; JAFARI-RADDANI; DELSHAD; POURBAGHERI-SIGAROODI *et al.*, 2023; ROSSETTI; BROEGE; SEN; KHAN *et al.*, 2024; SCHÖTZ; BALZER; BRANDT; ZIEMANN *et al.*, 2020; XU; NA; LI; CHEN, 2020).

Figura 3.7 – Estrutura química de inibidores de segunda geração em comercialização direcionados a enzima PI3K.



Fonte: do autor (2025).

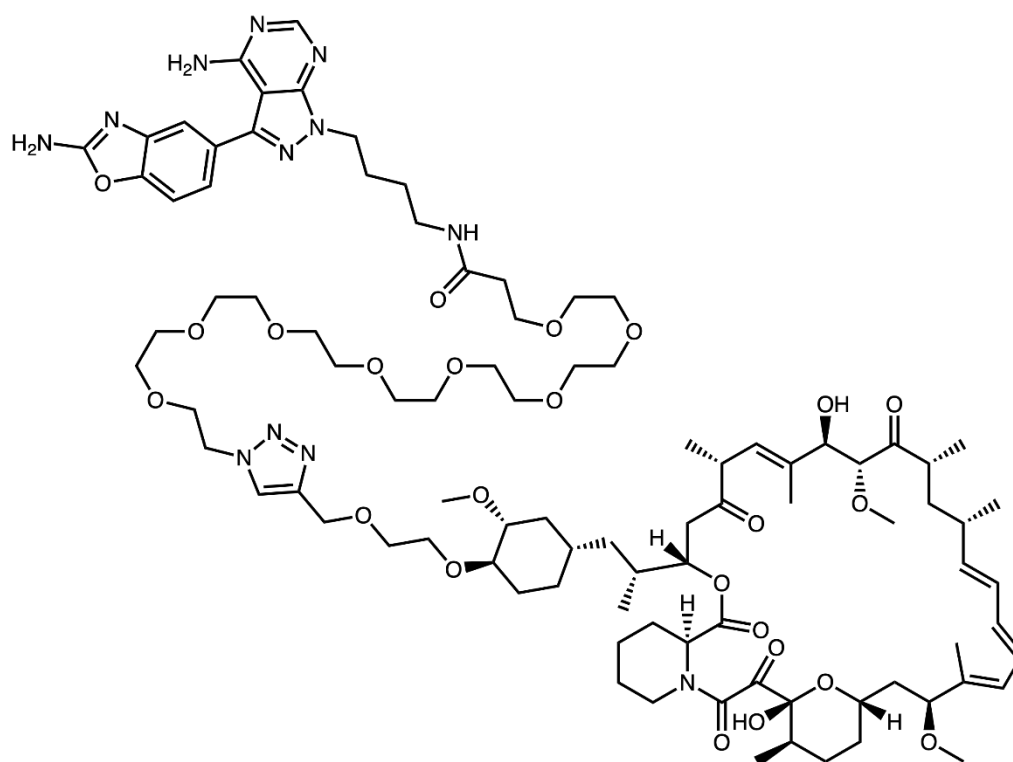
3.4.3 Inibidores de terceira e quarta geração

A mTOR, especialmente, conta com uma terceira geração de inibidores formada por várias moléculas sintéticas com mecanismos de ação distintos. Existem dois tipos principais de inibidores nesta geração: aqueles que se ligam às subunidades da mTOR, e os chamados RapaLinks. Exemplos de inibidores sintéticos são as benzo[c]cromen-6-onas, que atuam ao se ligar ao RAPTOR, levando a uma mudança conformacional na estrutura da mTOR. Isso resulta no fechamento do sítio ativo da quinase, promovendo a inibição da mTOR (CHEN; ZHOU, 2020).

Os RapaLinks são inibidores mistos derivados da adição de um inibidor de segunda geração à estrutura da rapamicina. Esses inibidores agem pela proximidade espacial do

domínio FRB com o domínio quinase, que liga os inibidores de primeira e segunda geração. Isso permite que os RapaLinks se liguem a ambos os sítios ativos, reestruturando a mTOR para interagir com ambas as porções da molécula. Um exemplo representativo é o RapaLink-1, mostrado na Figura 3.8, formado pela combinação de rapamicina com o inibidor de segunda geração MLN0128, o que resulta em uma molécula bivalente com maior eficácia e potência. Apesar de ainda estarem em fase inicial de desenvolvimento, os RapaLinks apresentam resultados promissores como inibidores de terceira geração da mTOR. (DOMINGUEZ; ROSBERGER; GARELL; GANDHI *et al.*, 2022; ZHOU; LI; RANA; CORNELIUS *et al.*, 2023).

Figura 3.8 – Estrutura química RapaLink-1.



Fonte: do autor (2025).

Por fim, a quarta geração é composta por inibidores de origem natural que têm potencial para regular direta ou indiretamente a atividade da mTOR durante a sinalização celular. Alguns desses produtos naturais atuam como ligantes que inibem proteínas cuja fosforilação ativa a mTOR, representando uma forma de inibição indireta. Os produtos naturais mais relevantes como inibidores incluem curcuminas, polifenóis (como resvaterol),

polifenóis não flavonoides, isoflavonoides (como genisteína), alcaloides (como cafeína) e extratos de ginkgo biloba (como ácido ginkgólico) (CHEN; ZHOU, 2020).

3.5 Modelagem molecular

A modelagem molecular é um conjunto de métodos da química computacional que utiliza representações matemáticas e ferramentas computacionais para descrever, analisar e prever propriedades e interações de moléculas em diferentes tipos de sistemas, incluindo os químicos e biológicos (FERNANDES; DE ASSIS; ROSA; FERREIRA DA CUNHA, 2019). Trata-se de uma área abrangente que engloba diferentes abordagens fundamentadas na mecânica quântica, na mecânica molecular e em métodos estatísticos aplicados (ZHANG; LI, 2024). A escolha da metodologia mais adequada está condicionada ao tamanho do sistema estudado e à profundidade de caracterização do sistema exigida pelo estudo. Em sistemas macromoleculares, com magnitude da ordem de 10^4 átomos, como proteínas e outros complexos biomoleculares, a mecânica molecular é majoritariamente empregada como abordagem principal. Este método empírico, fundamentado na mecânica clássica, possibilita a estimativa eficiente de propriedades estruturais e energéticas com maior eficiência computacional. Dentre as metodologias associadas a essa abordagem, destaca-se o ancoramento molecular (*molecular docking*), técnica central neste trabalho, utilizada para investigar interações entre ligantes e seus respectivos alvos biológicos. (JENSEN, 2017; LEVINE, 2016;(ADELUSI; OYEDELE; BOYENLE; OGUNLANA *et al.*, 2022).

3.5.1 Ancoramento Molecular

O ancoramento molecular (*molecular docking*) é uma ferramenta empregada para prever a orientação espacial preferencial de uma molécula ligante ao se associar a uma macromolécula alvo, geralmente uma proteína (VITTORIO; LUNGHINI; MORERIO; GADIOLI *et al.*, 2024). Este método permite ancorar computacionalmente um determinado ligante em uma macromolécula e prever, a partir de cálculos de energia potencial e funções de pontuação (*score*), a conformação mais estável que o ligante pode obter em relação à macromolécula. A principal função do ancoramento molecular é prever a estrutura tridimensional do complexo ligante-receptor, incluindo tanto a orientação quanto a conformação do ligante quando ligado ao receptor. Este processo é crucial para entender as interações moleculares e para o desenvolvimento de novos fármacos, especialmente porque

muitas doenças são causadas por disfunções ou desregulações de alvos biológicos proteicos (ABDELSATTAR; DAWOUD; HELAL, 2021; SAHU; RATHOR; DWIVEDI; SHAH *et al.*, 2024; VASANT; CHANDRAKANT; CHANDRASHEKHAR; BABASAHEB *et al.*, 2021).

As interações moleculares no ancoramento são majoritariamente não covalentes, envolvendo ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas, forças de van der Waals e interações iônicas. O espaço de busca no ancoramento molecular compreende a posição, orientação e conformação do ligante. A posição refere-se às diferentes localizações possíveis do ligante dentro do sítio de ligação, a orientação descreve a direção do ligante em relação ao receptor, e a conformação refere-se às diferentes formas que o ligante pode assumir devido à rotação ao redor de suas ligações simples (ABDELSATTAR; DAWOUD; HELAL, 2021; VASANT; CHANDRAKANT; CHANDRASHEKHAR; BABASAHEB *et al.*, 2021).

O processo de ancorar um ligante no sítio ativo de uma proteína rígida possui seis graus de liberdade, três deles são translacionais e três rotacionais, além das movimentações provenientes da conformação espacial do ligante. Os três graus de liberdade translacionais podem ser reproduzidos em uma grade, denominada grid, colocando, por exemplo, o centro de massa do ligante em uma caixa dividida tridimensionalmente em pequenos cubos com dimensões de 1 Å. Uma caixa de dimensão $10 \times 10 \times 10$ Å gera 1000 pontos possíveis, sendo que para cada ponto podem ser geradas orientações rotacionais diferentes para o ligante, resultando em algumas centenas de possibilidades. Um conjunto específico de variáveis rotacionais e translacionais intermoleculares é denominado de pose e cada conformação do ligante pode ter na ordem de 10^5 poses possíveis, mesmo em grids subdivididos em cubos de dimensões extensas (JANSEN, 2017).

3.5.1.1 Ancoramento molecular no desenho de fármacos baseados em estrutura

Um exemplo de aplicação da modelagem molecular associada ao ancoramento molecular é o desenho racional de fármacos baseado em estrutura. Os avanços da biologia molecular, aliados ao desenvolvimento de técnicas experimentais para a caracterização de proteínas, possibilitaram a identificação de inúmeros alvos moleculares relacionados a doenças, bem como a elucidação de suas estruturas tridimensionais. Esse progresso, aliado à crescente necessidade de compreender as interações entre fármacos e receptores em nível molecular e à urgência de desenvolver fármacos em prazos cada vez mais curtos, levou ao surgimento do Desenho Racional de Fármacos Baseado em Estrutura (DRBE) (MORGON; COUTINHO, 2007; STANZIONE; GIANGRECO; COLE, 2021).

Neste cenário, o ancoramento molecular é amplamente utilizado no DRBE para a descoberta de novos compostos bioativos. Uma vez compreendida a doença, a primeira etapa consiste em identificar o alvo molecular a ser estudado, cuja estrutura tridimensional pode ser obtida por técnicas experimentais, como difração de raios-X e ressonância magnética nuclear (RMN), ou por métodos teóricos, como a modelagem por homologia. De posse da estrutura, realiza-se a triagem computacional (ou triagem *in silico*), na qual o ancoramento molecular é realizado com grandes conjuntos de moléculas oriundas de bancos de dados, com o objetivo de selecionar aquelas que interagem de maneira mais eficaz com o sítio de ligação da macromolécula (PINZI; RASTELLI, 2019).

Os compostos selecionados nessa etapa podem, então, ser refinados por um novo ancoramento molecular, permitindo a identificação de grupos farmacofóricos e a proposição de modificações estruturais para potencializar o efeito biológico desejado. Em seguida, após sua síntese, esses compostos passam para os testes *in vitro* e *in vivo* para avaliação de critérios como toxicidade e farmacocinética, incluindo metabolismo e degradação no organismo. Caso não apresentem resultados satisfatórios, são propostas alterações estruturais e o ciclo de ancoramento e testes é repetido. Apenas os compostos aprovados nesses ensaios avançam para os testes clínicos em humanos e, uma vez aprovados, podem ser produzidos em escala industrial e disponibilizados comercialmente (MORGON; COUTINHO, 2007; KUMAR; KUMAR, 2019; PINZI; RASTELLI, 2019; STANZIONE; GIANGRECO; COLE, 2021).

3.5.1.2 Redocking

O *redocking* é uma técnica refinada dentro do campo do ancoramento molecular, que visa aprimorar a precisão dos algoritmos de predição na modelagem de interações ligante-macromolécula. Este método realiza o reposicionamento computacional de um ligante previamente cristalizado dentro do sítio ativo de uma macromolécula alvo, reproduzindo as condições experimentais. Durante o processo de *redocking*, o software de ancoramento molecular calcula as energias de interação entre o ligante e a macromolécula, utilizando funções de pontuação ou de aptidão. Essas funções são projetadas para avaliar a afinidade do ligante com o sítio ativo, levando em consideração fatores como a complementaridade estrutural, forças de van der Waals, interações eletrostáticas, entre outros (SCHNEIDER; HINDLE; LANGE; KLEIN *et al.*, 2012; BARREIRO; FRAGA, 2014; JENSEN, 2017; FLACHSENBERG; EHRT; GUTERMUTH; RAREY, 2023; SCHNEIDER; HINDLE; LANGE; KLEIN *et al.*, 2012).

Após o reposicionamento do ligante, a pose resultante é comparada com a estrutura experimental por meio de métricas estatísticas, como o RMSD (*Root Mean Square Deviation*), que quantifica a discrepância entre as estruturas preditas e experimentais. Valores de RMSD inferiores a 2,0 Å são geralmente considerados como indicativos de uma concordância satisfatória entre as poses (SCHALLER; CHRIST; CHODERA; VOLKAMER, 2024). Além disso, uma análise detalhada da sobreposição espacial é realizada, levando em consideração não apenas o RMSD, mas também os ângulos de torção e os grupos moleculares específicos de cada composto reforça a utilidade do redocking como uma ferramenta de validação robusta. Este processo contribui significativamente para otimizar as previsões obtidas por meio do ancoramento molecular (SCHNEIDER; HINDLE; LANGE; KLEIN *et al.*, 2012; BARREIRO; FRAGA, 2014; JENSEN, 2017;(FLACHSENBERG; EHRT; GUTERMUTH; RAREY, 2023; SCHNEIDER; HINDLE; LANGE; KLEIN *et al.*, 2012)).

3.5.1.3 Análise Multivariada

No âmbito da modelagem molecular e do ancoramento molecular, a análise multivariada é uma ferramenta especialmente útil para examinar simultaneamente múltiplas variáveis, permitindo interpretar e correlacionar os dados obtidos de forma integrada. Diferentemente das análises univariadas ou bivariadas, que consideram uma ou duas variáveis por vez, a análise multivariada permite avaliar relações complexas entre diversas variáveis independentes e dependentes ao mesmo tempo. As variáveis independentes correspondem às características que explicam ou influenciam o sistema estudado, como descritores moleculares ou propriedades físico-químicas, enquanto as variáveis dependentes são aquelas que representam o resultado ou resposta do sistema, como a atividade biológica de um composto (CHI, 2012; HAIR; BLACK; BABIN; ANDERSON, 2014).

Nesse contexto, a definição adequada dos descritores moleculares é um passo essencial, pois são eles que traduzem em parâmetros numéricos as interações químicas e estruturais identificadas, seja por métodos de modelagem molecular ou ancoramento molecular. A análise multivariada, ao integrar esses descritores com os dados de atividade biológica, permite não apenas construir modelos preditivos, mas também selecionar os descritores mais relevantes. Isso é particularmente importante porque tais parâmetros guiam a proposição de novos protótipos, assegurando que as modificações estruturais sugeridas estejam alinhadas aos padrões de seletividade e atividade observados.

A análise multivariada abrange diferentes técnicas estatísticas que permitem identificar padrões, reduzir a dimensionalidade dos dados ou construir modelos preditivos e exploratórios. Esses métodos são classificados, de modo geral, em três grandes grupos: exploratórios, classificatórios e preditivos. Os métodos exploratórios, como a Análise de Componentes Principais (PCA), são utilizados para identificar padrões e reduzir a dimensionalidade dos dados, facilitando a visualização de tendências. Métodos classificatórios, como a Análise de Agrupamento (Cluster Analysis), visam organizar as observações em grupos com base em suas semelhanças. Por fim, os métodos preditivos, como a Regressão Linear Múltipla (MLR) e a Regressão por Mínimos Quadrados Parciais (PLS) utilizados para modelar relações entre variáveis independentes e dependentes (YAZICI, 2019).

A MLR e a PLS são amplamente utilizadas na modelagem molecular, especialmente em estudos de QSAR, por permitirem a construção de modelos preditivos e exploratórios entre descritores moleculares e a atividade biológica de compostos (CHAUHAN; PALIWAL; SHARMA; JAIN *et al.*, 2024; GOLBRAIKH; WANG; ZHU; TROPSHA, 2016). A MLR é indicada quando as variáveis independentes não apresentam alta correlação entre si e o número de descritores é limitado. Já a PLS é mais robusta frente à multicolinearidade e indicada quando há um grande número de descritores ou quando estes superam o número de amostras (YAZICI, 2019).

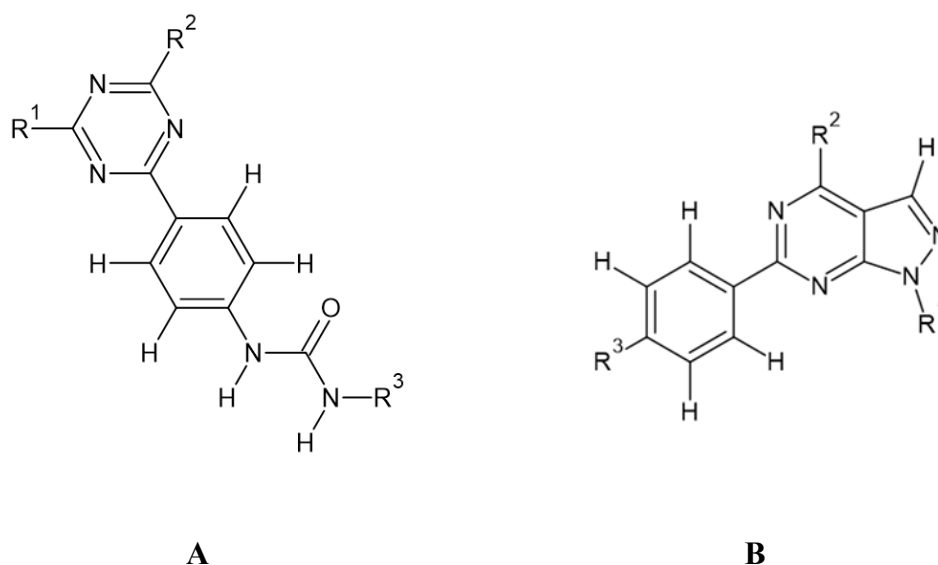
4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Estruturas dos inibidores de segunda geração

A partir de uma revisão bibliográfica prévia sobre moléculas com dados experimentais de IC_{50} (concentração mínima necessária para inibir 50% da atividade enzimática) de inibidores de segunda geração, caracterizados como competitivos de ATP, este trabalho concentrou-se na análise das enzimas PI3K α e mTOR. Com base na análise geral das estruturas dos ligantes, foram definidos grupos de compostos a serem explorados. Cada grupo, conforme ilustrado na Figura 4.1, é caracterizado por um elemento estrutural comum, geralmente localizado na região central da molécula. Essa classificação visa facilitar a análise dos dados e avaliar se tais elementos estruturais influenciam as propriedades dos ligantes e suas interações com os sítios ativos das enzimas estudadas. A série de moléculas estudadas no

grupo A apresenta como núcleo central a cadeia N-[4-(1,3,5-triazin-2-yl)fenil]ureia e as estudadas no grupo B a cadeia 6-fenil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina.

Figura 4.1 – Elementos estruturais comuns em cada grupo.



Fonte: do autor (2025).

Nas Tabelas S1 e S6 do material suplementar, apresenta-se a série de inibidores análogos investigados de cada grupo, juntamente com seus respectivos valores de atividade inibitória frente às enzimas estudadas. Os compostos foram selecionados a partir de artigos e patentes indexados no banco de dados ChEMBL, com base em sua atividade frente às enzimas PI3K α e mTOR. Para cada grupo de ligantes, as referências utilizadas para PI3K α e mTOR são:

- Grupo A: ChEMBL1157610 (VENKATESAN; DEHNHARDT; DELOS SANTOS; CHEN *et al.*, 2010), ChEMBL1255533 (VENKATESAN; CHEN; DOS SANTOS; DEHNHARDT *et al.*, 2010), ChEMBL1156955 (VERHEIJEN; RICHARD; CURRAN; KAPLAN *et al.*, 2010) e ChEMBL1156956 (RICHARD; VERHEIJEN; YU; ZASK, 2010).
- Grupo B: ChEMBL1151963 (ZASK; VERHEIJEN; CURRAN; KAPLAN *et al.*, 2009) e ChEMBL1154707 (ZASK; KAPLAN; VERHEIJEN; RICHARD *et al.*, 2009).

A atividade biológica dos compostos utilizados foi avaliada com base nos valores de IC₅₀. Todos os dados experimentais de cada grupo foram extraídos de um único estudo,

garantindo uniformidade metodológica e evitando divergências associadas a diferentes protocolos experimentais nos testes em cada enzima. As estruturas tridimensionais destes compostos foram construídas no software Discovery Studio®, onde também foram submetidos à minimização de energia e ao cálculo das cargas parciais por meio do método de Gasteiger-Marsili (GASTEIGER; MARSILI, 1980).

4.2 Preparo das enzimas PI3K α e mTOR

As estruturas cristalográficas das enzimas PI3K α e mTOR foram obtidas do PDB (do inglês Protein Data Bank, <https://www.rcsb.org/>) com o código 6GVI e 4JSX, respectivamente. Ambos os cristais foram obtidos por organismos de expressão de origem humana, com resolução de 2,90 e 3,50 Å, respectivamente. Esses cristais foram selecionados devido ao interesse nos seus ligantes co-cristalizados, que apresentam similaridade estrutural com os compostos avaliados neste estudo (OUVRY; CLARY; TOMAS; AURELLY *et al.*, 2019; YANG; RUDGE; KOOS; VAIDIALINGAM *et al.*, 2013). As moléculas de água foram removidas, os átomos de hidrogênio foram adicionados e a estrutura foi minimizada usando o campo de força CHARMM (*Chemistry at HARvard Macromolecular Mechanics*) (VANOMMESLAEGHE; HATCHER; ACHARYA; KUNDU *et al.*, 2010) no software Discovery Studio®.

O campo de força CHARMM foi desenvolvido para simular sistemas biológicos complexos, incluindo peptídeos, proteínas, grupos prostéticos, ligantes de pequenas moléculas, ácidos nucleicos, lipídios e carboidratos, tanto em soluções quanto em cristais e ambientes de membrana (MACKERELL JR; BASHFORD; BELLOTT; DUNBRACK JR *et al.*, 1998). Além dos termos padrão que representam a energia de ligação, angulação e torção, o modelo matemático do CHARMM (equação 4.1) inclui dois parâmetros adicionais para calcular a energia total do sistema (E): o termo impróprio e o termo Urey-Bradley.

$$\begin{aligned}
 E = & \sum_{\text{ligação}} k_b (b - b_0)^2 + \sum_{\text{angular}} k_\theta (\theta - \theta_0)^2 + \sum_{\text{diédro}} k_\phi [1 + \cos(n\phi - \delta)] \\
 & + \sum_{\text{impróprio}} k_w (w - w_0)^2 + \sum_{\text{Urey-Bradley}} k_u (u - u_0)^2 \\
 & + \sum_{\text{não ligado}} \left\{ \epsilon_{ij} \left[\left(\frac{R_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - 2 \left(\frac{R_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right] + \frac{q_i q_j}{\epsilon_{ij} r_{ij}} \right\}
 \end{aligned} \tag{4.1}$$

O termo impróprio é uma extensão da energia relacionada à deformação angular fora do plano, enquanto o termo Urey-Bradley é uma extensão do parâmetro de estiramento, que também lida com deformações fora do plano. A inclusão desses parâmetros aprimora a precisão das simulações de sistemas biológicos complexos, ajustando deformações angulares e estiramentos fora do plano, aspectos essenciais para representar com fidelidade a geometria e as interações que compõem esses sistemas.

4.3 Ancoramento molecular

O ancoramento molecular dos ligantes às suas respectivas enzimas-alvo foi realizado no programa *Molegro Virtual Docker*⁴(MVD). Primeiro, uma cavidade correspondente ao potencial sítio de ligação foi identificada utilizando um algoritmo de predição implementado no MVD. O método baseia-se em uma caixa gradeada com resolução de 0,8 Å e esferas de raio de 1,4 Å (van der Waals) posicionadas nos vértices, cobrindo toda a proteína. Os pontos da grade onde a esfera colide com os átomos da proteína serão denominados parte do volume inacessível, enquanto todos os outros pontos são denominados como acessíveis. As cadeias laterais dos aminoácidos localizados a 6 Å do centro do sítio ativo foram considerados flexíveis durante o ancoramento. Para isso um potencial foi usado para simular a flexibilidade da cavidade (encaixe induzido). Ao ancorar o ligante, o receptor é mantido rígido em sua conformação padrão. Após o ancoramento, as cadeias laterais selecionadas foram minimizadas em relação à pose encontrada. Depois do reposicionamento das cadeias laterais, o ligante teve sua energia minimizada. Para prever os valores de energia de interação ligante-receptor, a função de pontuação MolDock *Score* foi usada. As poses foram selecionadas pelo algoritmo de pesquisa Moldock Simplex Evolution (Moldock SE). Ele realiza uma busca local por simplex (Nelder–Mead) a partir da pose gerada e, depois, amplia a procura considerando as demais poses, caracterizando uma busca global.

A função de pontuação do MVD é derivada de campos de força, sendo que a energia total de pontuação (E_{score}) é obtida pela soma das energias intermoleculares e intramoleculares (equação 4.2):

⁴ Molegro Virtual Docker, produzido por Molexus – Computational Drug Discovery. Toda a informação contida na seção 4.3 foi retirada do manual de instrução do software a partir do Apêndice I: MolDock Scoring Function, disponível no site oficial da Molexus. Fonte: Molegro Virtual Docker: Overview > User Manual. Disponível em <<http://molexus.io/molegro-virtual-docker/>> Acesso em: 25/07/2024.

$$E_{score} = E_{inter} + E_{intra} \quad (4.2)$$

A energia intermolecular é calculada a partir da equação 4.3, em que o termo E_{PLP} é definido como *piecewise linear potential* (potencial linear parcial), que contempla dois parâmetros distintos, um referente ao termo de impedimento estérico entre átomos (van der Waals) e outro mais forte, referente às interações tipo ligações de hidrogênio. O valor absoluto 332,0 tem a função de fixar as unidades do potencial eletrostático em kcal mol⁻¹. Os parâmetros q_i e q_j são referentes às cargas parciais dos átomos i e j , advindas do potencial de Coulomb. O termo r_{ij} é relativo à distância entre dois átomos e o algoritmo considera o seu termo ao quadrado.

$$E_{inter} = \sum_{i \in \text{ligante}} \sum_{j \in \text{proteína}} \left[E_{PLP}(r_{ij}) + 332,0 \frac{q_i q_j}{4 r_{ij}^2} \right] \quad (4.3)$$

O termo para a energia intramolecular é mostrado na equação 4.4, onde termo E_{PLP} , já mencionado, é somado aos parâmetros de torção molecular que se assemelha a porção de energia de ângulos diedros da equação 4.1.

$$E_{intra} = \sum_{i \in \text{ligante}} \sum_{j \in \text{proteína}} E_{PLP}(r_{ij}) + \sum_{\text{ligações flexíveis}} A [1 - \cos(m\theta - \theta_0)] + E_{clash} \quad (4.4)$$

A equação para a energia intramolecular ainda possui um termo extra (E_{clash}), definido como o parâmetro que imputa uma penalidade de 1000 unidades caso um átomo pesado, que é definido como sendo aqueles diferentes de hidrogênio, que estejam a uma distância inferior a 2 Å. A constante A é a constante de força derivada da série de Fourier, θ é o ângulo de torção e θ_0 é o ângulo de torção da estrutura em equilíbrio e o parâmetro m indica o índice do de Fourier. Os parâmetros torcionais A, m e θ possuem valores que variam de acordo com a hibridização. Hibridizações entre carbonos *sp2-sp3* possuem valores de θ_0 , m e A de 0, 6 e 1,5 respectivamente. Hibridizações do tipo *sp3-sp3* tomam valores de π , 3 e 3. A hibridização do tipo *sp2-sp2* não fica ativada como padrão do programa, mas caso ativada, ela retorna os valores de 0, 2 e 3 para os parâmetros A, m e θ .

4.4 Descritores Moleculares

Os descritores moleculares são ferramentas que traduzem propriedades químicas, estruturais ou funcionais das moléculas em informações quantitativas, e são amplamente utilizados em estudos de relação estrutura-atividade que buscam associar essas características à atividade biológica dos compostos. No presente trabalho, adotamos descritores que caracterizem as interações-chave presentes nos complexos receptor-ligante. Especificamente, eles correspondem às energias de interação intermolecular entre cada ligante e os resíduos situados em um raio de 6 Å do centro da cavidade do sítio ativo de cada enzima. Cada resíduo selecionado fornece um valor de energia, expresso em $\text{kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$, refletindo sua contribuição para a estabilidade da interação.

Esta estratégia permite incorporar diretamente a estrutura tridimensional da proteína no modelo, oferecendo uma visão mais realista e funcional das interações intermoleculares. A utilização deste tipo de descritor permite identificar padrões de afinidade e resíduos chaves que influenciam na potência dos inibidores, o que distingue o método de abordagens que consideram exclusivamente propriedades estruturais ou eletrônicas dos ligantes. Os valores de energia foram obtidos por meio de cálculos de ancoramento molecular e, para assegurar a qualidade dos dados, foram mantidos apenas os descritores com variação significativa (desvio médio acima de 0,5), reduzindo ruído e multicolinearidade nos modelos.

4.5 Regressão linear múltipla

A regressão linear múltipla (MLR) foi empregada para investigar como os resíduos de aminoácidos do sítio ativo de cada enzima contribuem para a potência dos ligantes avaliados. O objetivo das análises de MLR foi identificar quais resíduos influenciam, aumentando ou diminuindo, a atividade dos compostos. Para tanto, foi calculada a correlação entre as variáveis dependentes (atividade biológica, pIC_{50}) e as variáveis independentes (energias de interação intermolecular, em kcal/mol , obtidas via ancoramento molecular).

A técnica de MLR, que estabelece uma relação entre uma matriz de descritores (X) e uma variável-resposta (Y), foi selecionada por ser apropriada em situações nas quais o número de descritores é inferior ao número de amostras, além de ser estatisticamente mais simples e de implementação direta. A MLR também permite uma interpretação direta dos coeficientes de regressão, em que cada valor representa o peso individual de um descritor sobre a resposta (pIC_{50}), favorecendo a análise da contribuição específica de cada resíduo de aminoácido.

Os valores de IC_{50} e K_i , originalmente expressos em nM, foram transformados em pIC_{50} e pK_i ($-\log_{10}$) para linearização dos dados e melhor compatibilidade com os parâmetros teóricos de energia (descritores), viabilizando uma correlação estatística mais robusta. Os cálculos MLR foram realizados no *software* CHEMOFACE (NUNES; FREITAS; PINHEIRO; BASTOS, 2012).

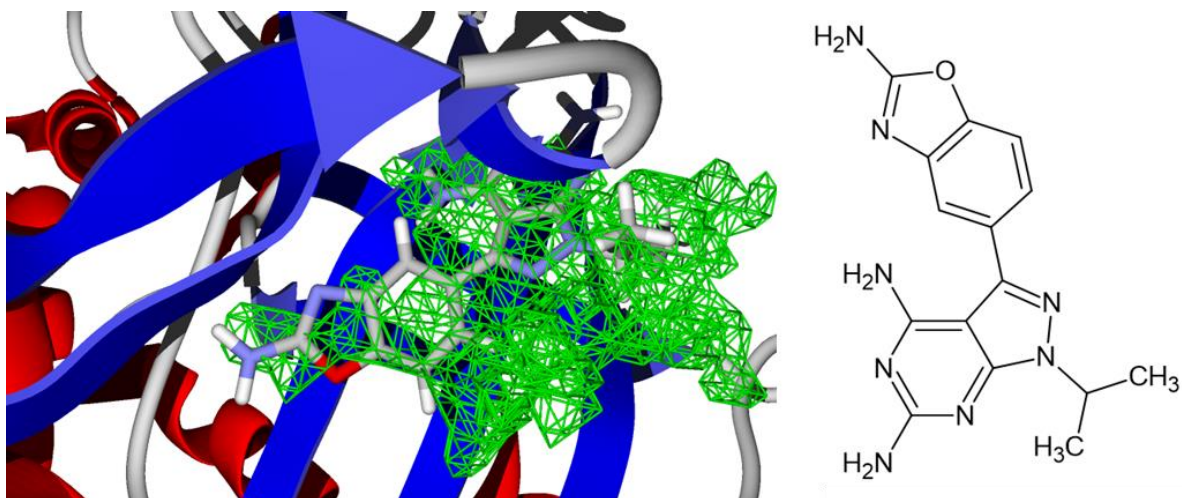
5 RESULTADOS E DISCUSÃO

5.1 Cálculos de ancoramento molecular

A estrutura da enzima PI3K α , obtida a partir do cristal 6GVI contendo o ligante (3-(2-azanyl-1,3-benzoxazol-5-yl)-1-propan-2-yl-pyrazolo[3,4-d]pyrimidine-4,6-diamine) co-cristalizado, é apresentada na Figura 5.1. A cavidade identificada apresenta um volume de 152,6 Å³. Os resíduos que compõem o sítio ativo em um raio de 6,0 Å a partir do ligante de referência incluem: Arg770, Met772, Ser774, Pro778, Trp780, Ile800, Lys802, Leu807, Leu814, Tyr836, Cys838, Ile848, Glu849, Val850, Val851, Arg852, Ser854, His855, Thr856, Gln859, Ser919, Met922, Phe930, Ile932, Asp933, Phe934, Gly935. A figura 5.2 mostra a estrutura da enzima mTOR, obtida a partir do cristal 4JSX contendo o ligante Torin2 co-cristalizado. A cavidade identificada apresenta um volume de 596,0 Å³. Os resíduos que compõem o sítio ativo em um raio de 6,0 Å a partir do ligante de referência são: Ile2163, Lys2166, Gln2167, Pro2169, Ser2165, Leu2185, Lys2187, Leu2192, Glu2190, Asp2195, Tyr2225, Ile2237, Gly2238, Trp2239, Val2240, Pro2241, His2242, Cys2243, Asp2244, Thr2245, Asp2338, His2340, Ser2342, Asn2343, Met2345, Arg2348, Leu2354, Ile2356, Asp2357, Phe2358.

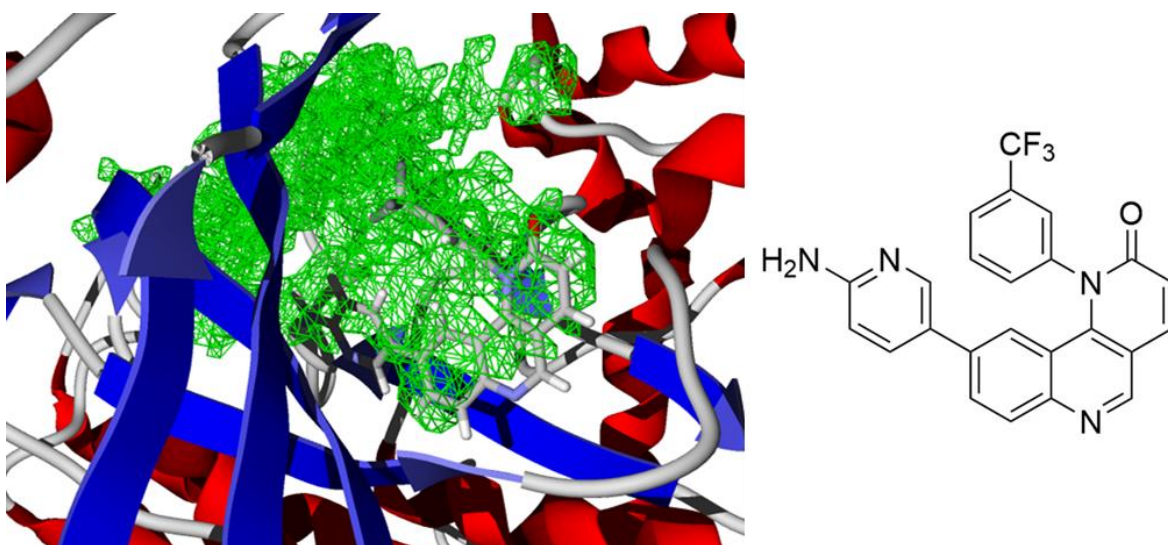
O ancoramento dos ligantes co-cristalizados em cada estrutura foi realizado com o objetivo de efetuar o *redocking*, uma etapa essencial para a validação do método empregado. O desvio quadrático médio (RMSD) obtido para a molécula co-cristalizada na enzima PI3K α , em comparação à pose prevista pelo MVD, foi de 1,54 Å, enquanto para a enzima mTOR o valor calculado foi de 0,89 Å. Como todos os valores de RMSD permaneceram inferiores a 2,0 Å, o método adotado foi considerado validado para aplicação nos cálculos de ancoramento subsequentes.

Figura 5.1 – Estrutura do sítio ativo da enzima PI3K α com a representação da cavidade e o ligante 3-(2-azanyl-1,3-benzoxazol-5-yl)-1-propan-2-yl-pyrazolo[3,4-d]pyrimidine-4,6-diamine), obtida do PDB 6GVI.



Fonte: do autor (2025).

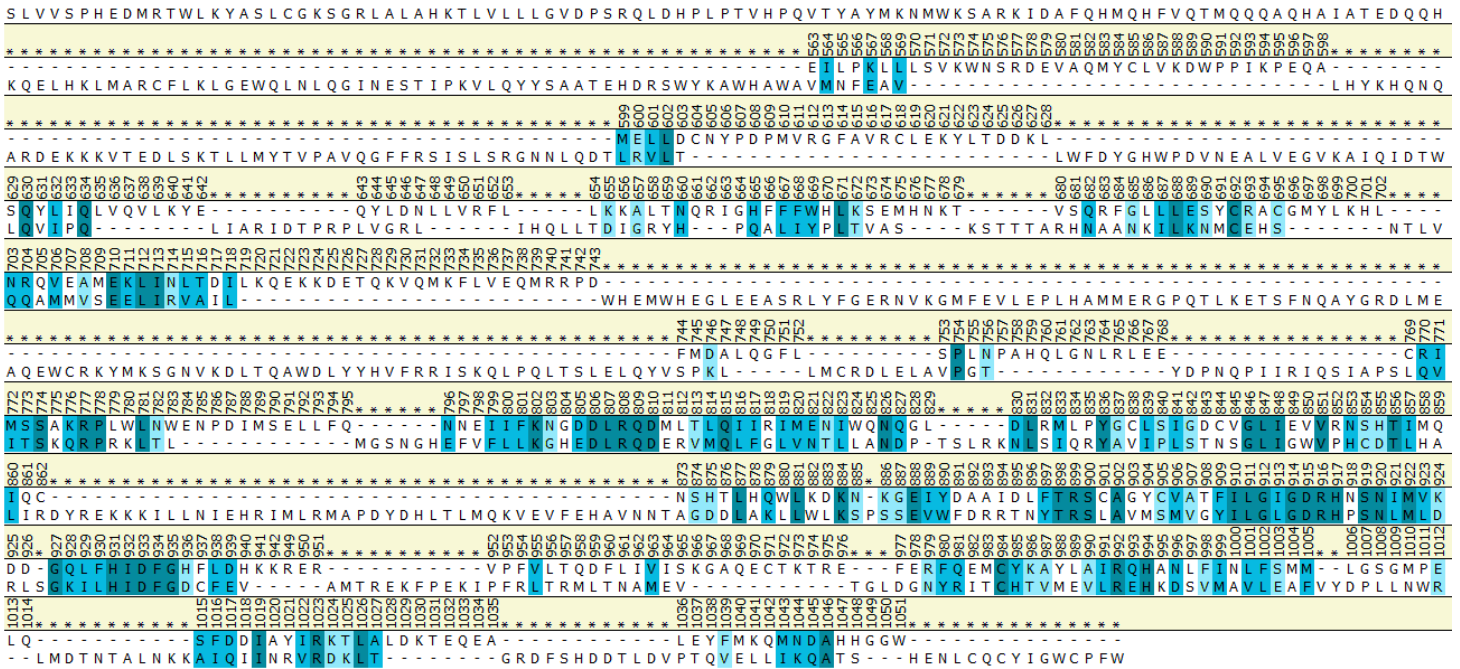
Figura 5.2 – Estrutura do sítio ativo da enzima mTOR com a representação da cavidade e o ligante Torin 2, obtida do PDB 4JSX.



Fonte: do autor (2025).

A Figura 5.3 apresenta o alinhamento parcial das sequências primárias das enzimas PI3K α e mTOR, uma análise essencial para este estudo, pois permite a comparação direta de seus sítios ativos. O alinhamento foi realizado utilizando o software Discovery Studio, por meio do método de sobreposição estrutural. Foram considerados os intervalos de resíduos 754–1012 para PI3K α e 2141–2430 para mTOR. O resultado indicou uma similaridade de 29,3% entre as sequências primárias neste intervalo específico, que engloba o sítio de

interação de ambas as enzimas (mTOR, PDB 4JSX; PI3K α , PDB 6GVI). Essa análise evidenciou regiões conservadas e divergentes, cujo entendimento é fundamental para interpretar como as variações estruturais influenciam a estabilidade e as interações com os ligantes investigados. Essa comparação será retomada e aprofundada nos tópicos subsequentes.



Legenda: A numeração na linha em tom bege corresponde à sequência da enzima PI3K α . A intensidade da coloração azul indica o nível de similaridade entre os aminoácidos: tons mais claros representam baixa similaridade, azul intermediário indica similaridade moderada e o azul mais escuro corresponde a aminoácidos idênticos. A ausência de cor indica ausência de similaridade estrutural.

Fonte: do autor (2025).

5.2 Regressão linear múltipla (MLR)

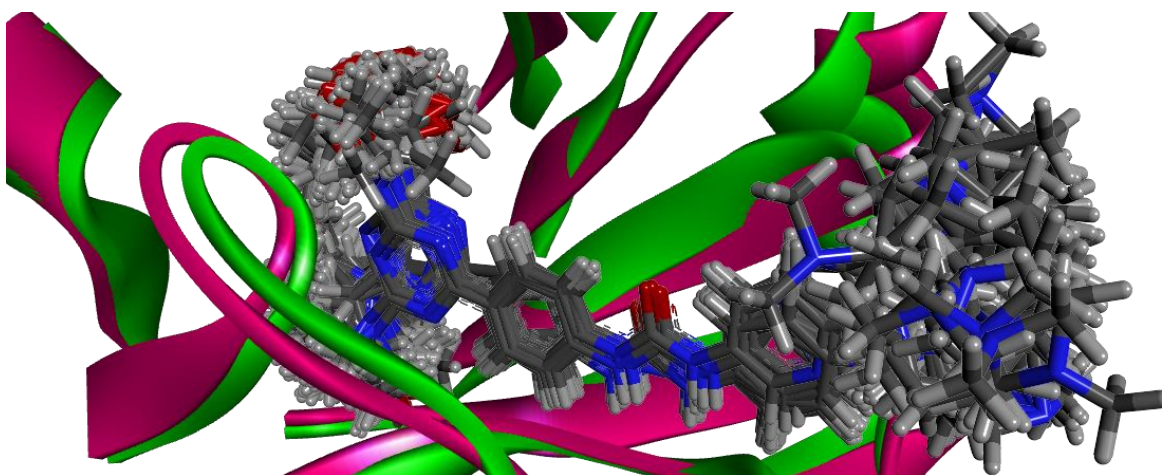
5.2.1 Grupo A

As energias de interação intermoleculares (variáveis independentes), mostradas nas tabelas S3 e S5 do material suplementar, foram calculadas via ancoramento molecular dos compostos descritos na Tabela S1 do mesmo material, para mTOR e PI3K α , respectivamente. Em ambos os conjuntos de cálculos, o composto Gedatolisibe foi utilizado como referência

espacial para a seleção das poses. Esta escolha deve-se ao fato desse composto ser amplamente reconhecido na literatura como um potente inibidor dual PI3K/mTOR (ROSSETTI; BROEGE; SEN; KHAN *et al.*, 2024). O critério adotado visou minimizar o desvio dos elementos estruturais comuns nos conjuntos de moléculas, permitindo avaliar de forma mais precisa o efeito dos grupos substituintes na atividade dos compostos.

A Figura 5.4 apresenta a sobreposição das 82 poses selecionadas, sendo 47 correspondentes à mTOR e 35 à PI3K α , os valores de energia Moldock, interação intermolecular e ligação de hidrogênio calculados para essas poses estão mostradas nas Tabelas S2 e S4 do material suplementar, respectivamente. A estrutura em verde corresponde ao sítio ativo da mTOR, enquanto a região em rosa evidencia o sítio ativo da PI3K α . Essa representação favorece a análise comparativa das cavidades de ligação, ressaltando tanto as similaridades quanto as particularidades estruturais de cada enzima, o que contribui para a compreensão dos modos de interação receptor-ligante e para a identificação de padrões relevantes ao processo de caracterização.

Figura 5.4 – Estrutura do sítio ativo das enzimas mTOR e PI3K α com a representação da sobreposição das poses dos compostos investigadas no grupo A.

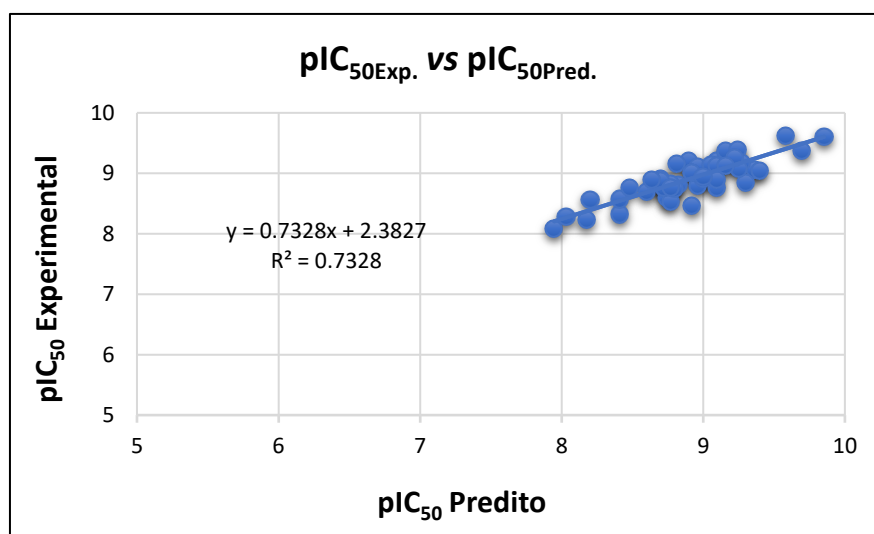


Fonte: do autor (2025).

Os 82 compostos foram randomicamente divididos em conjunto de treinamento (75%) e teste (25%). Os valores experimentais e os valores preditos pela MLR estão apresentados nas tabelas S3 e S5 do material suplementar para mTOR e PI3K α , respectivamente. As Figuras 5.5 e 5.6 mostram os gráficos de correlação entre os valores experimentais e os preditos de pIC₅₀. Os coeficientes de determinação (R²) obtidos para mTOR foram de 0,73 para o conjunto de treinamento e 0,73 para o conjunto de teste para mTOR. Para a PI3K α

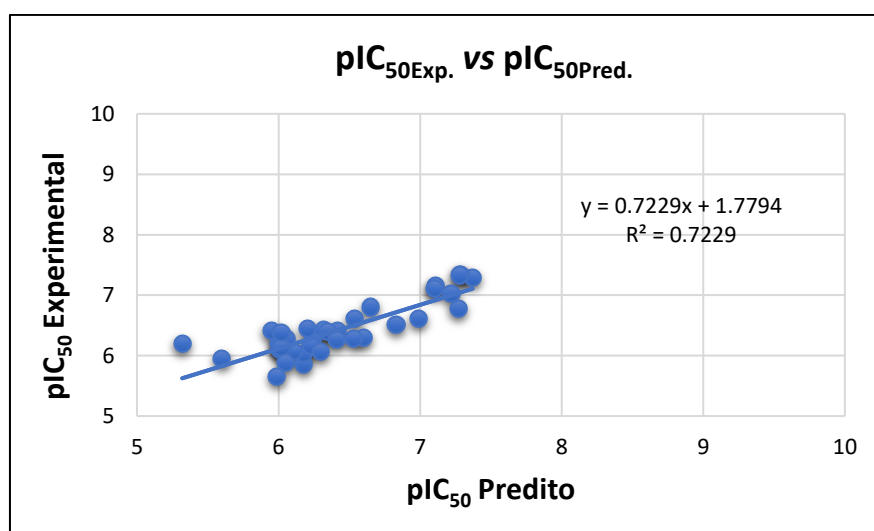
obtivemos 0,72 para o conjunto de treinamento e 0,78 para o conjunto de teste. Valores de R^2 iguais ou superiores a 0,7 são aceitos para esse tipo de modelagem (HOONDERT; OLDENKAMP; DE ZWART; VAN DE MEENT *et al.*, 2019; ZYDEK; BRZEZINSKA, 2012).

Figura 5.5 – Regressão linear pIC₅₀ experimental vs. pIC₅₀ predito para mTOR para o conjunto de treinamento.



Fonte: do autor (2025).

Figura 5.6 – Regressão linear pIC₅₀ experimental vs. pIC₅₀ predito para PI3K α para o conjunto de treinamento.



Fonte: do autor (2025).

Nas Equações 5.1 e 5.2, são apresentados os coeficientes resultantes da MLR para cada descritor (resíduo de aminoácido) que refletem a influência de cada um na interação com os compostos investigados, para mTOR e PI3K α , respectivamente. Coeficientes negativos indicam que o descritor contribui de forma favorável à atividade biológica dos ligantes, enquanto coeficientes positivos sugerem efeito desfavorável. Isso ocorre porque valores de energia mais estáveis são numericamente mais negativos, refletindo em um aumento do pIC₅₀ e, conseqüentemente, em menores valores de IC₅₀, o que indica maior potência inibitória.

$$\begin{aligned}
 \text{pIC}_{50} = & 1,674 + 0,260 \cdot \text{Thr2245} + 0,240 \cdot \text{His2189} + 0,068 \cdot \text{Gly2359} + 0,040 \cdot \text{Asp2433} \\
 & + 0,031 \cdot \text{Val2240} \quad + 0,024 \cdot \text{Asp2357} \quad + 0,021 \cdot \text{Leu2192} \quad + 0,011 \cdot \text{Trp2429} \\
 & + 0,007 \cdot \text{Ser2342} \quad + 0,005 \cdot \text{Asp2191} \quad + 0,004 \cdot \text{Gln2194} \quad + 0,003 \cdot \text{Phe2358} \\
 & - 0,004 \cdot \text{Asp2195} \quad - 0,007 \cdot \text{Ile2237} \quad - 0,016 \cdot \text{Trp2239} \quad - 0,030 \cdot \text{Arg2430} \quad (5.1) \\
 & - 0,042 \cdot \text{Tyr2225} \quad - 0,069 \cdot \text{Met2345} \quad - 0,081 \cdot \text{Glu2190} \quad - 0,140 \cdot \text{Lys2187} \\
 & - 0,171 \cdot \text{Asp2360} \quad - 0,235 \cdot \text{Ile2356} \quad - 0,450 \cdot \text{Cys2243}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{pIC}_{50} = & 6,412 + 0,235 \cdot \text{Glu1012} + 0,116 \cdot \text{His936} + 0,086 \cdot \text{Asp805} + 0,076 \cdot \text{Met772} \\
 & + 0,050 \cdot \text{Lys776} + 0,045 \cdot \text{Met922} + 0,033 \cdot \text{Ser854} + 0,025 \cdot \text{Val851} + 0,008 \cdot \text{Trp780} \\
 & + 0,004 \cdot \text{Asp806} + 0,003 \cdot \text{Gln809} - 0,007 \cdot \text{Asp810} - 0,054 \cdot \text{Ser774} - 0,080 \cdot \text{Val850} \quad (5.2) \\
 & - 0,093 \cdot \text{Lys802} - 0,140 \cdot \text{Phe930} - 0,187 \cdot \text{Ser773} - 0,227 \cdot \text{Gly935} - 0,251 \cdot \text{Gly804}
 \end{aligned}$$

A comparação entre as duas equações foi realizada a partir da análise dos coeficientes obtidos pela MLR, na qual os modelos foram construídos com base nas interações receptor–ligante e nos valores experimentais de pIC₅₀ apresentados nas Tabelas S3 e S5 do material suplementar. A análise de MLR foi realizada correlacionando os valores de atividade experimentais (variáveis dependentes) e de energia intermolecular (variáveis independentes). Nesse tipo de abordagem, os coeficientes são determinados de forma a minimizar a diferença entre os valores experimentais e os valores previstos pelo modelo. Em outras palavras, a MLR ajusta uma equação matemática que relaciona cada contribuição de energia (variáveis independentes) com a atividade observada (variável dependente), atribuindo pesos (coeficientes) a cada termo. O sinal e a magnitude desses coeficientes indicam se a interação associada a um determinado resíduo contribui positiva ou negativamente para a atividade, além da intensidade dessa contribuição.

A Tabela 5.1 resume os resíduos de mTOR e PI3K α com seus coeficientes de contribuição à atividade biológica dos ligantes obtidos pelo modelo MLR. A correspondência

entre os resíduos foi determinada pela sobreposição das sequências primárias das enzimas, permitindo identificar padrões de contribuição semelhantes ou divergentes em cada sítio ativo. Alguns resíduos correspondentes não possuem coeficiente na equação porque não foram considerados relevantes durante a etapa de seleção de descritores do modelo MLR.

Tabela 5.1 – Relação entre resíduos correspondentes de mTOR e PI3K α com coeficientes da MLR.

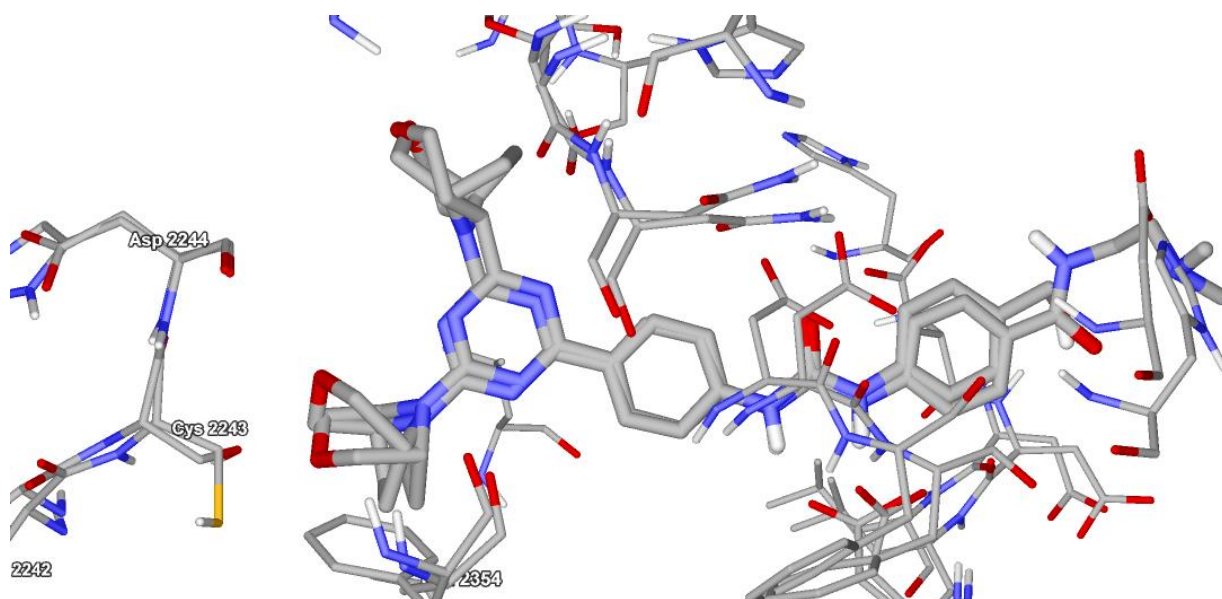
mTOR (coef./resíduo)	Correspondente em PI3K α	PI3K α (coef./resíduo)	Correspondente em mTOR
+0.260·Thr2245	Thr856	+0.235·Glu1012	-0.030·Arg2430
+0.240·His2189	-0.251·Gly804	+0.116·His936	-0.171·Asp2360
+0.068·Gly2359	-0.227·Gly935	+0.086·Asp805	-0.081·Glu2190
+0.040·Asp2433	gap	+0.076·Met772	Ile2163
+0.031·Val2240	+0.025·Val851	+0.050·Lys776	Gln2167
+0.024·Asp2357	Asp933	+0.045·Met922	-0.069·Met2345
+0.021·Leu2192	Leu807	+0.033·Ser854	-0.450·Cys2243
+0.011·Trp2429	Pro1011	+0.025·Val851	+0.031·Val2240
+0.007·Ser2342	Ser919	+0.008·Trp780	Lys2171
+0.005·Asp2191	+0.004·Asp806	+0.004·Asp806	+0.005·Asp2191
+0.004·Gln2194	+0.003·Gln809	+0.003·Gln809	+0.004·Gln2194
+0.003·Phe2358	Phe934	-0.007·Asp810	-0.004·Asp2195
-0.004·Asp2195	-0.007·Asp810	-0.054·Ser774	Ser2165
-0.007·Ile2237	Ile848	-0.080·Val850	-0.016·Trp2239
-0.016·Trp2239	-0.080·Val850	-0.093·Lys802	-0.140·Lys2187
-0.030·Arg2430	+0.235·Glu1012	-0.140·Phe930	Leu2354
-0.042·Tyr2225	Tyr836	-0.187·Ser773	Thr2164
-0.069·Met2345	+0.045·Met922	-0.227·Gly935	+0.068·Gly2359
-0.081·Glu2190	+0.086·Asp805	-0.251·Gly804	+0.240·His2189
-0.140·Lys2187	-0.093·Lys802	-	-
-0.171·Asp2360	+0.116·His936	-	-
-0.235·Ile2356	Ile932	-	-
-0.450·Cys2243	+0.033·Ser854	-	-

Fonte: do autor (2025).

A identificação dos resíduos equivalentes entre as enzimas mTOR e PI3K α permitiu comparar diretamente os valores dos coeficientes correspondentes. Essa análise mostrou um comportamento, em maior parte, oposto entre as duas enzimas no caso do grupo A: resíduos com coeficientes negativos com peso alto para a mTOR apresentaram coeficientes positivos relevantes para a PI3K α , e vice-versa. Esse padrão evidencia potenciais resíduos de aminoácidos determinantes de seletividade entre as enzimas e auxilia no direcionamento do desenho de novos potenciais inibidores.

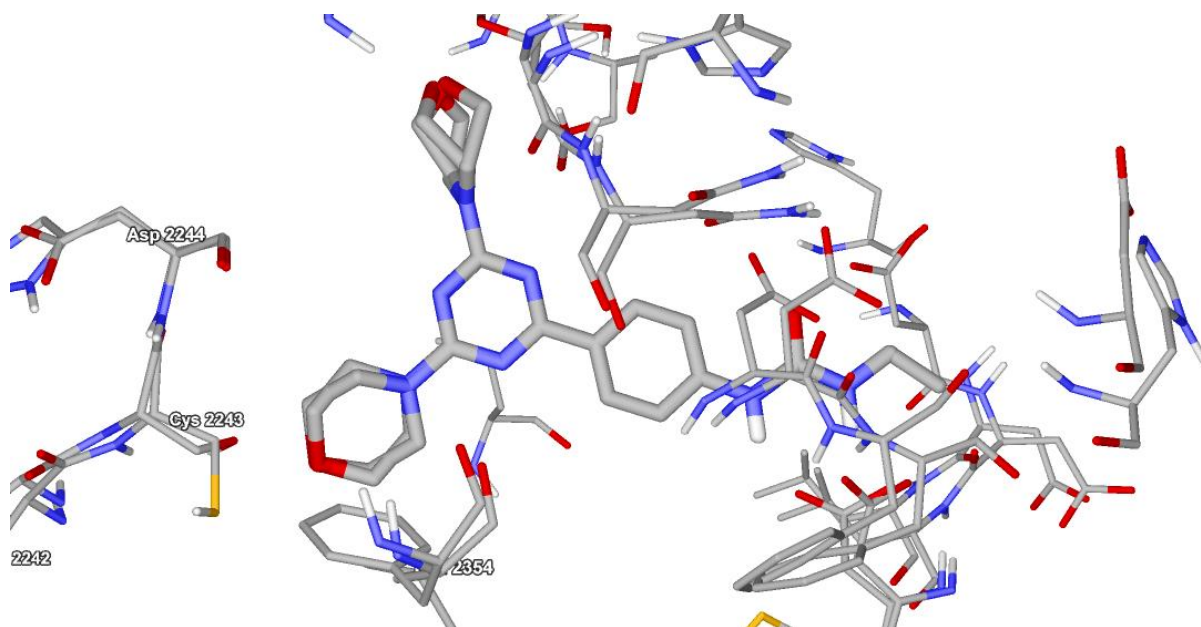
O resíduo Cys2243 da mTOR, identificado como o de maior coeficiente negativo no modelo e o resíduo correspondente na PI3K α , Ser854, apresentou coeficiente positivo. A Figura 5.7 destaca a região de interação da Cys2243 com os dois compostos mais ativos do conjunto (29D e 10D, ambos com maiores valores de pIC₅₀), os quais apresentam anéis morfolínicos com ponte etileno na posição R1. Em contraste, os compostos menos ativos (10A e 9A) possuem anéis morfolínicos simples em R1, conforme ilustrado na Figura 5.8. Como o coeficiente associado ao Cys2243 foi negativo no modelo, a presença de substituintes volumosos nessa região parece favorecer a interação, o que sugere um caminho para a proposição de inibidores mais potentes. Além disso, a análise das energias de interação obtidas no ancoramento molecular mostrou que 29D e 10D apresentaram valores mais estáveis (menores) do que 10A e 9A, reforçando a correlação entre as observações experimentais, o modelo estatístico e os resultados de simulação. Em termos de interações, tanto a morfolina em ponte quanto o anel morfolina simples podem formar interações de van der Waals, envolvendo a porção -SH da cisteína e os oxigênios dos anéis, que estabilizam a região, desde que estejam em orientação adequada.

Figura 5.7 – Representação gráfica da região de interação dos compostos 29D e 10D com o resíduo Cys2243.



Fonte: do autor (2025).

Figura 5.8 – Representação gráfica da região de interação dos compostos 10A e 9A com o resíduo Cys2243.

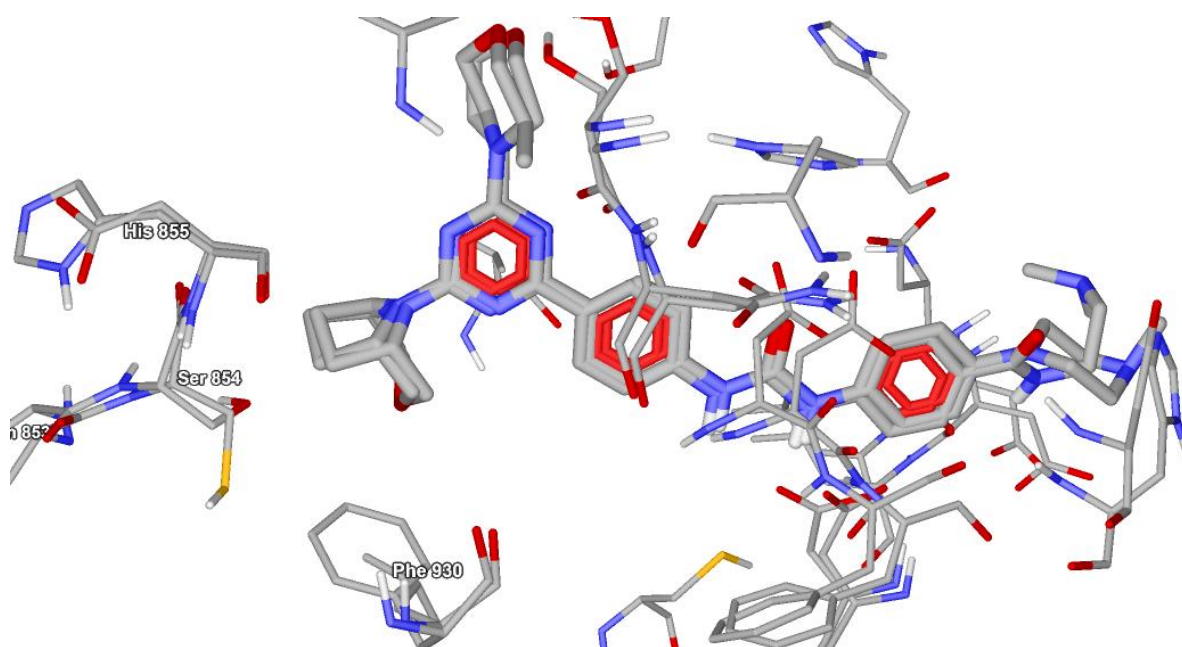


Fonte: do autor (2025).

As Figuras 5.9 e 5.10 mostram a interação do resíduo Ser854 em R1, onde os ligantes mais potentes (38D e 20D) apresentam como substituintes anéis morfolínicos com ponte etileno entre os carbonos 2 e 6, e o menos ativo (17D) um metilpropan-2-amina. Uma diferença estrutural relevante nessa região entre as enzimas está nos resíduos correspondentes

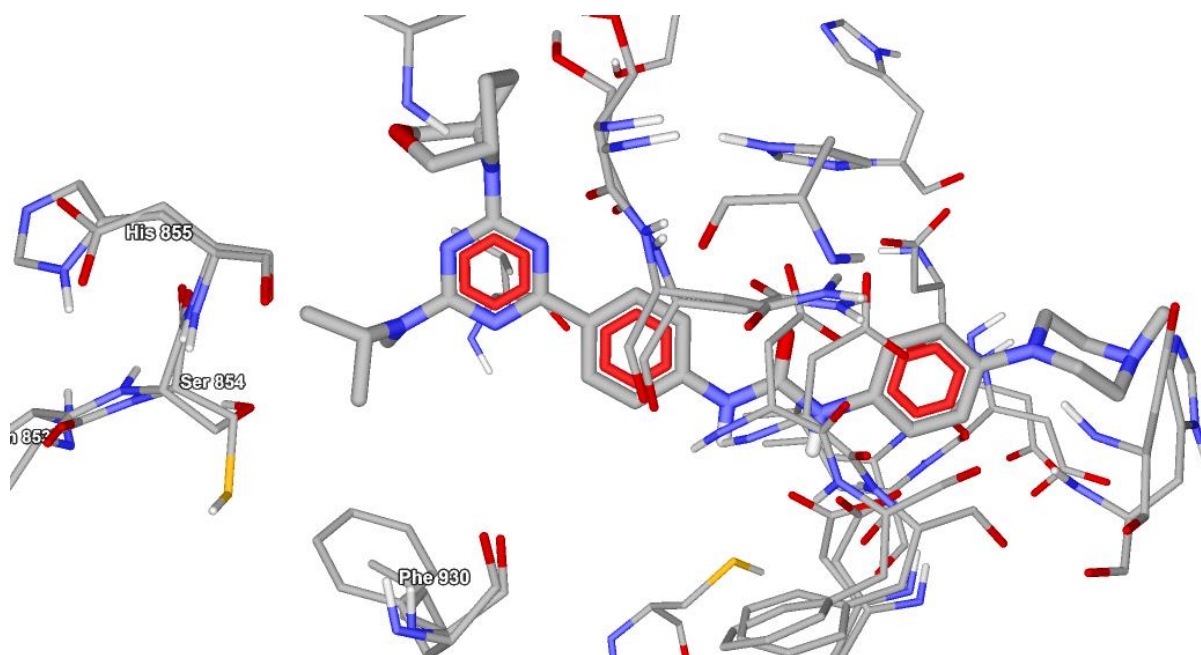
Leu2354 (mTOR) e Phe930 (PI3K α). Neste cenário, o maior volume de Phe930 pode aumentar o impedimento estérico em R1, dificultando o encaixe de substituintes volumosos. No entanto, o coeficiente positivo da Ser854 e as energias de interação menos estáveis obtidas para os compostos mais potentes sugerem que a elevada atividade de 38D e 20D não se deve diretamente a esse resíduo, mas a interações em outras regiões do sítio ativo. Ainda assim, a comparação com o resíduo análogo da mTOR (Cys2243), que apresentou contribuição positiva para a potência dos inibidores, reforça a importância dessa comparação para uma melhor compreensão dos determinantes de seletividade entre as duas enzimas.

Figura 5.9 – Representação gráfica da região de interação dos compostos 38D e 20D com o resíduo Ser854.



Fonte: do autor (2025).

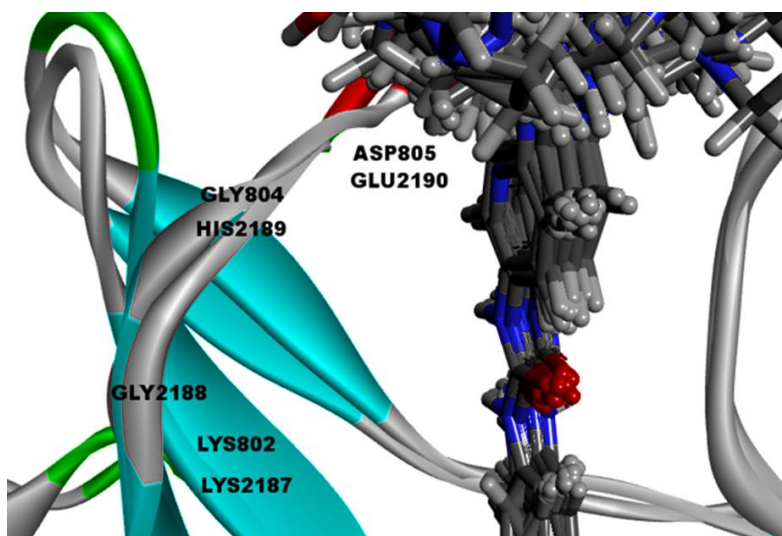
Figura 5.10 – Representação gráfica da região de interação do composto 17D com o resíduo Ser854.



Fonte: do autor (2025).

Segundo Venkatesan (2010), a região de dobra mostrada na Figura 5.11, que inclui os resíduos Asp805, Glu2190, Lys802, Lys2187, Gly804, Gly2188 e His2189 das enzimas PI3K α e mTOR, respectivamente, constitui uma área importante para a interação com os substituintes R3 dos ligantes.

Figura 5.11 – Região de dobra das enzimas PI3K α e mTOR e seus resíduos-chave de interação.

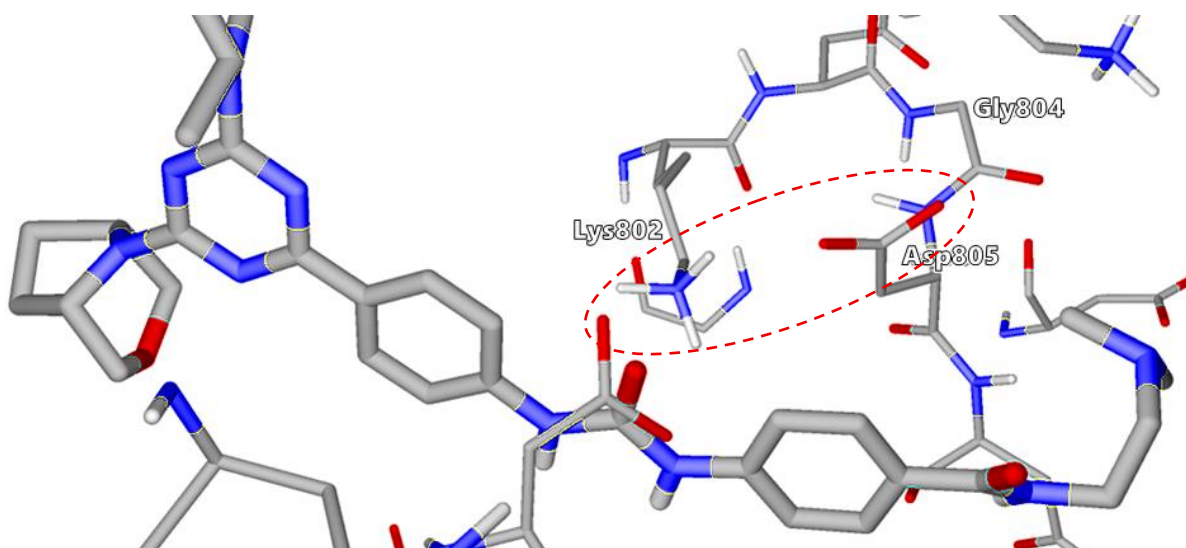


Fonte: do autor (2025).

Em pH fisiológico (7,4), os resíduos de glutamato e aspartato encontram-se desprotonados, apresentando carga negativa nos grupos carboxilato, enquanto o grupo amino da lisina permanece protonado, com carga positiva. Nessas condições, os resíduos Asp804 e Lys802 da PI3K α estão posicionados de forma favorável à formação de uma ponte salina, interação que confere estabilidade adicional à região (Figura 5.12). De modo análogo, na enzima mTOR essa interação ocorre entre Lys2187 e Glu2190 (Figura 5.13).

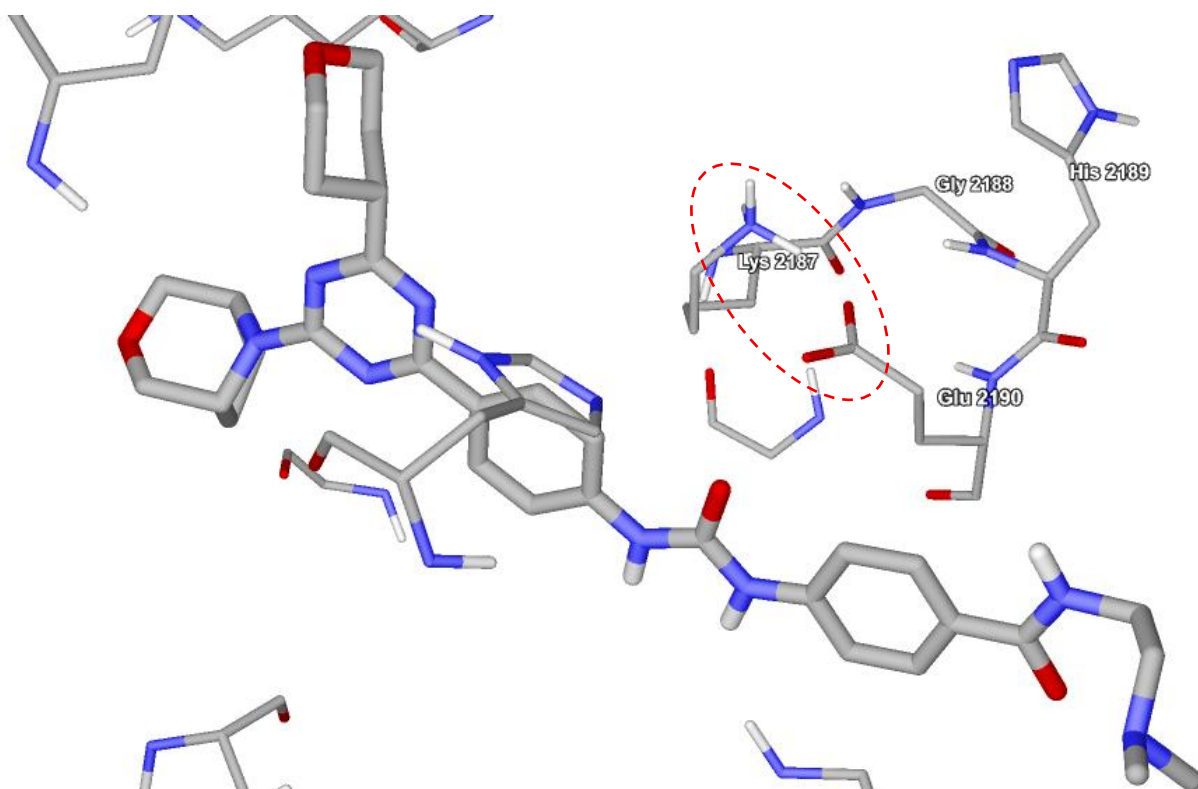
A principal diferença estrutural entre as duas enzimas está relacionada à posição da glicina. Em PI3K α , Gly804 encontra-se adjacente ao aspartato, enquanto em mTOR a presença de His2189 separa Gly2188 de Glu2190, originando uma cavidade mais profunda nessa região. Essa diferença altera significativamente o volume da cavidade, em PI3K α o espaço é mais restrito, o que dificulta o encaixe de grupos volumosos em R3, ao passo que na mTOR a cavidade com maior volume pode acomodar grupos maiores com menos restrições estéricas. Essa observação é corroborada pelas equações 5.1 e 5.2, nas quais os resíduos Gly804, Lys802, Lys2187 e Glu2190 apresentam coeficientes negativos, indicando contribuição positiva para a potência dos compostos.

Figura 5.12 – Região de dobra da enzima PI3K α e seus resíduos-chave de interação.



Fonte: do autor (2025)

Figura 5.13 – Região de dobra da enzima mTOR e seus resíduos-chave de interação.



Fonte: do autor (2025).

Com base nessas observações, foram propostos cinco novos possíveis inibidores (PA1-PA5), cujas estruturas estão apresentadas na Tabela 5.2. Os valores previstos de pIC_{50} calculados a partir das Equações 5.1 e 5.2 para as enzimas mTOR e $PI3K\alpha$, respectivamente, estão apresentados também na Tabela 5.2. As modificações estruturais foram direcionadas principalmente às posições R1 e R3, identificadas como as regiões com maior potencial de otimização.

A proposta PA1, em comparação com o composto 29D, apresentou valores de MolDock e de energia de ligação de hidrogênio mais estáveis, assim como um maior pIC_{50} . Seu desempenho em $PI3K\alpha$ não foi satisfatório, sugerindo seletividade para mTOR. As alterações estruturais mais relevantes ocorreram em R2, com a adição de um anel (2*R*,4*S*)-piperidina substituído por uma metila no carbono 2 e uma hidroxila no carbono 4. Em R3, a substituição da amina terciária terminal por um grupo hidroximetil, combinada com a presença da hidroxila em R2, provavelmente contribuiu para a maior estabilidade da energia das ligações de hidrogênio.

A proposta PA2, embora não tenha apresentado alterações significativas nos valores de energia, exibiu aumento relevante no pIC_{50} para mTOR, mantendo baixo desempenho em $PI3K\alpha$, reforçando o perfil seletivo. Nessa proposta, um dos substituintes metil da amina terciária terminal em R3 foi substituído por um etil, evidenciando novamente que substituintes mais volumosos em R3 favorecem a seletividade para mTOR.

Por outro lado, a proposta PA3 apresentou valores de energia mais estáveis e o maior pIC_{50} do conjunto quando comparada ao composto 38D, que apresenta estrutura semelhante ao 29D. Como seu desempenho em mTOR não foi satisfatório, PA3 se mostra um potencial inibidor seletivo para $PI3K\alpha$, corroborando que substituintes menos volumosos em R1 e R3 favorecem a seletividade para esta enzima. As propostas PA4 e PA5 seguem padrões similares aos de PA3, reforçando que os substituintes em R1 são elementos-chave na determinação da seletividade enzimática.

Tabela 5.2 – Estruturas, valores de energia (MolDock, interação intermolecular e ligações de hidrogênio) em $\text{kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$, e valores de pIC_{50} estimados para cada proposta para mTOR e ($PI3K\alpha$). (Continua)

Comp.	Estrutura	Moldock	Inter.	Lig. H	pIC_{50} Pred. (**)
29D		-147,2	-199,9	-2,9	9,85 ^E
38D		-98,4	-154,2	-3,0	7,37 ^E

Tabela 5.2 – Estruturas, valores de energia (MolDock, interação intermolecular e ligações de hidrogênio) em kcal·mol⁻¹, e valores de pIC₅₀ estimados para cada proposta para mTOR e (PI3K α).
(Continuação)

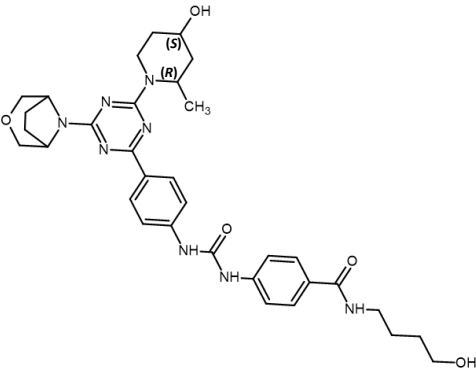
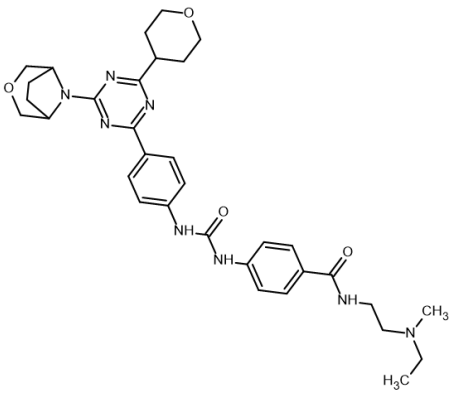
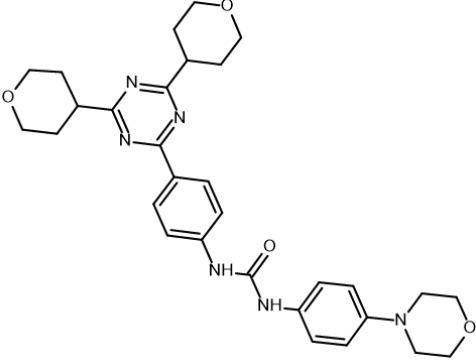
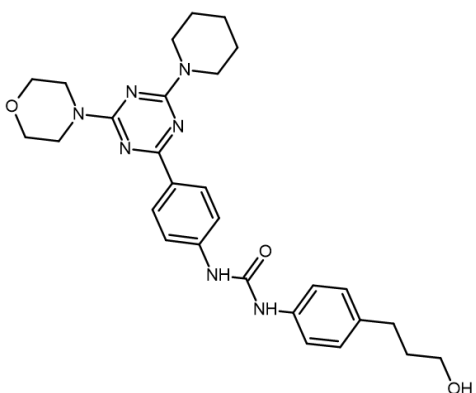
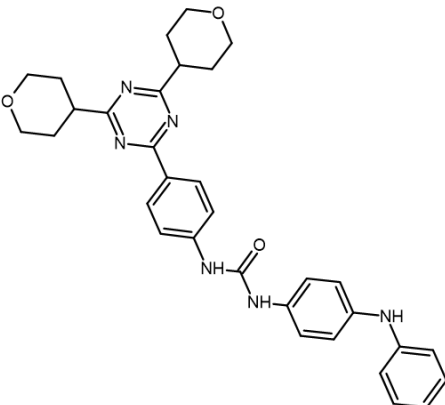
Comp.	Estrutura	Moldock	Inter.	Lig. H	pIC ₅₀ Pred. ^{*(**)}
PA1		-155,6 (-81,50)	-202,5 (-128,46)	-6,2 (-0,02)	10,01* (6,48)**
PA2		-147,53 (-47,02)	-202,41 (-110,45)	-2,87 (-0,44)	10,12* (6,45)**
PA3		-124,35 (-98,77)	-162,53 (-151,64)	-3,26 (-0,80)	8,41* (8,48)**

Tabela 5.2 – Estruturas, valores de energia (MolDock, interação intermolecular e ligações de hidrogênio) em kcal·mol⁻¹, e valores de pIC₅₀ estimados para cada proposta para mTOR e (PI3K α).
(Conclusão)

Comp.	Estrutura	Moldock	Inter.	Lig. H	pIC ₅₀ Pred. ^{*(**)}
PA4		-148,80 (-99,95)	-190,56 (-158,36)	-6,95 (-4,30)	8,01* (7,50)**
PA5		-121,66 (-91,74)	-161,17 (-122,25)	-1,75 (-0,74)	8,90* (7,54)**

*valor previsto pela equação 5.1

(**) valor previsto pela equação 5.2

^Evalor experimental

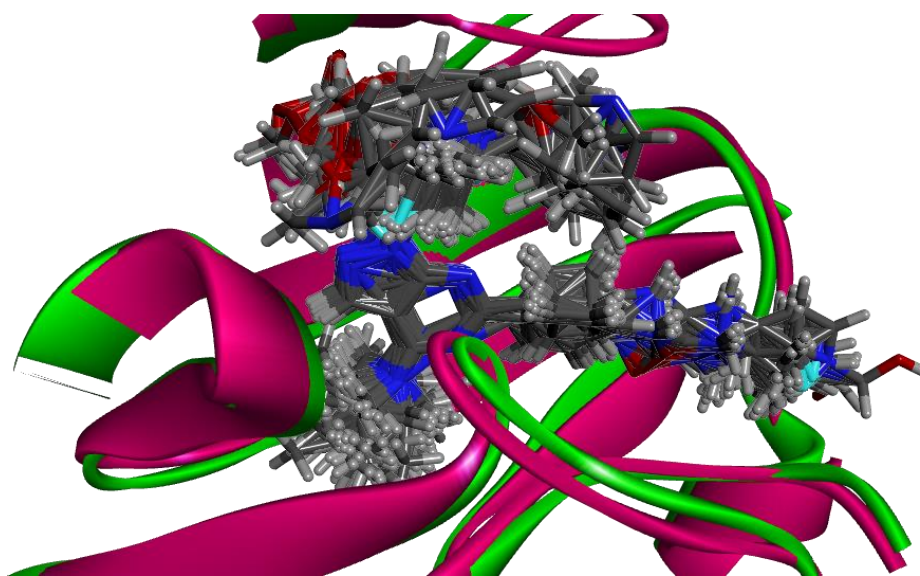
Fonte: do autor (2025).

2.5.2 Grupo B

Para o estudo dos compostos pertencentes ao grupo B, apresentados na Tabela S6 do material suplementar, foram empregados os mesmos parâmetros de cálculo de ancoramento molecular e o mesmo critério de seleção das poses. Nesse caso, o composto 3-(2-azanyl-1,3-benzoxazol-5-yl)-1-propan-2-yl-pyrazolo[3,4-d]pyrimidine-4,6-diamine, cocrystalizado no cristal 6GVI, foi utilizado como referência para a escolha das poses em ambas as enzimas, uma vez que contém o núcleo estrutural característico do grupo B. A Figura 5.14 ilustra a

sobreposição das 97 poses selecionadas, sendo 48 associadas à mTOR e 38 à PI3K α , os valores de energia Moldock, interação intermolecular e ligação de hidrogênio calculados para essas poses estão mostradas nas Tabelas S7 e S9 do material suplementar, respectivamente. Nessa representação, a região em verde corresponde ao sítio ativo da mTOR, enquanto a região em rosa evidencia o sítio ativo da PI3K α . As estruturas das proteínas e das poses selecionadas também foram sobrepostas a fim de destacar padrões estruturais relevantes para a interpretação dos modos de interação receptor-ligante.

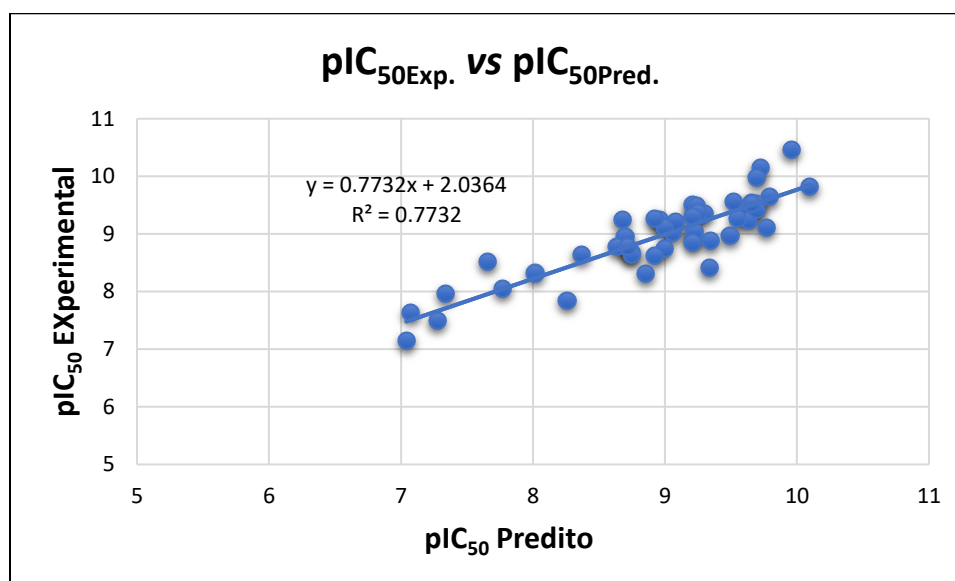
Figura 5.14 – Estrutura do sítio ativo das enzimas mTOR e PI3K com a representação da sobreposição das poses dos compostos investigadas no grupo B.



Fonte: do autor (2025).

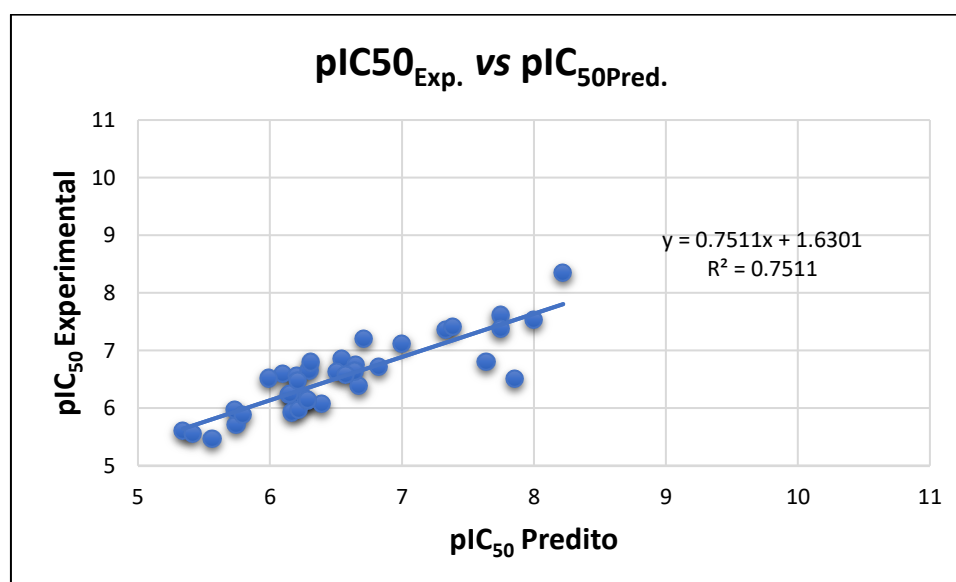
Os 97 compostos foram randomicamente divididos em conjunto de treinamento (75%) e teste (25%). Os valores experimentais e os valores preditos pela MLR estão apresentados nas Tabelas S8 e S10 do material suplementar para mTOR e PI3K α , respectivamente. As Figuras 5.15 e 5.16 mostram os gráficos de correlação entre os valores experimentais e os preditos de pIC₅₀. Os coeficientes de determinação (R²) obtidos foram de 0,77 para o conjunto de treinamento e 0,73 para o conjunto de teste para mTOR, e 0,75 para o conjunto de treinamento e 0,80 para o conjunto de teste para PI3K α . Como os valores de R² foram todos superiores a 0,7 os modelos foram aceitos para prosseguir a análise.

Figura 5.15 – Regressão linear pIC₅₀ experimental vs. pIC₅₀ predito para mTOR para o conjunto de treinamento.



Fonte: do autor (2025).

Figura 5.16 – Regressão linear pIC₅₀ experimental vs. pIC₅₀ predito para PI3K α para o conjunto de treinamento.



Fonte: do autor (2025).

As Equações 5.3 e 5.4 apresentam os coeficientes resultantes da MLR para cada descritor (resíduo de aminoácido) que refletem a influência de cada um na interação com os compostos investigados, para mTOR e PI3K α , respectivamente. Lembrando que coeficientes

negativos indicam que o descritor contribui de forma favorável à atividade biológica dos ligantes, enquanto coeficientes positivos sugerem efeito desfavorável.

$$\begin{aligned}
 pIC_{50} = & 0,723 + 0,770 \cdot \text{Ile2163} + 0,622 \cdot \text{Asp2360} + 0,362 \cdot \text{Ile2237} \\
 & + 0,219 \cdot \text{Glu2190} + 0,131 \cdot \text{Gly2238} + 0,013 \cdot \text{Asp2191} \\
 & + 0,010 \cdot \text{Trp2239} - 0,039 \cdot \text{Leu2354} - 0,056 \cdot \text{Tyr2225} - 0,084 \cdot \text{Met2345} \\
 & - 0,089 \cdot \text{Ile2356} - 0,090 \cdot \text{Asp2195} - 0,103 \cdot \text{Leu2192} - 0,113 \cdot \text{Val2240} \\
 & - 0,134 \cdot \text{Lys2187} - 0,145 \cdot \text{Asp2357} - 0,154 \cdot \text{Phe2358} - 0,324 \cdot \text{Pro2169} \\
 & - 0,647 \cdot \text{Leu2185}
 \end{aligned} \tag{5.3}$$

$$\begin{aligned}
 pIC_{50} = & 18,917 - 0,422 \cdot \text{Val851} + 0,282 \cdot \text{Glu798} + 0,225 \cdot \text{Met922} \\
 & + 0,216 \cdot \text{Gln859} + 0,184 \cdot \text{Val850} + 0,132 \cdot \text{Tyr836} + 0,108 \cdot \text{Ser854} \\
 & + 0,093 \cdot \text{Trp780} + 0,017 \cdot \text{Ser774} - 0,030 \cdot \text{Ile932} - 0,038 \cdot \text{Thr856} \\
 & - 0,046 \cdot \text{Ile848} - 0,124 \cdot \text{Ser773} - 0,125 \cdot \text{Arg770} - 0,133 \cdot \text{Asp805} - 0,186 \cdot \text{His855}
 \end{aligned} \tag{5.4}$$

A Tabela 5.3 resume a correspondência entre os resíduos de mTOR e PI3K α e seus coeficientes de contribuição à atividade biológica dos ligantes obtidos pelo modelo MLR. A correspondência foi determinada pela sobreposição das sequências primárias das enzimas, e alguns resíduos não possuem coeficiente na equação por não terem sido considerados relevantes na seleção de descritores do modelo.

Tabela 5.3 – Relação entre resíduos correspondentes de mTOR e PI3K α com coeficientes da MLR. (continua)

mTOR (coef./resíduo)	Correspondente em PI3K α	PI3K α (coef./resíduo)	Correspondente em mTOR
+0.657·Ile2163	+0.032·Met772	+0.339·Gln809	Gln2194
+0.577·Asp2360	His936	+0.193·Val850	+0.010·Trp2239
+0.425·Ile2237	-0.481·Ile848	+0.167·Tyr836	-0.056·Tyr2225
+0.204·Glu2190	-0.133·Asp805	+0.114·Gly935	Gly2359
+0.107·Gly2238	-0.017·Glu849	+0.054·Thr773	Thr2164
+0.023·Trp2239	+0.193·Val850	+0.051·Asp810	-0.090·Asp2195
+0.017·Asp2191	+0.011·Asp806	+0.049·Ser919	Ser2342
-0.016·Met2345	-0.004·Phe930	+0.032·Met772	+0.770·Ile2163

Tabela 5.3 – Relação entre resíduos correspondentes de mTOR e PI3K α com coeficientes da MLR. (conclusão)

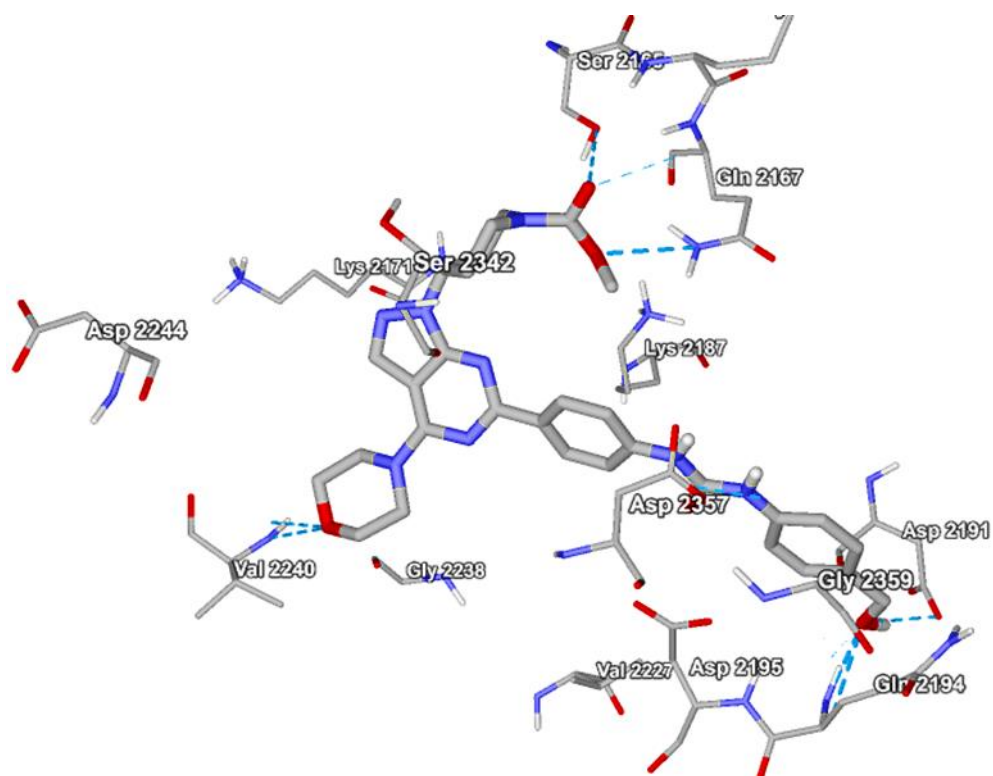
-0.047·Tyr2225	+0.167·Tyr836	+0.030·Asp933	-0.145·Asp2357
-0.048·Ile2356	Met922	+0.018·Val851	-0.113·Val2240
-0.051·Asp2195	-0.022·Ile932	+0.011·Asp806	+0.013·Asp2191
-0.052·Leu2354	+0.051·Asp810	-0.004·Phe930	-0.039·Leu2354
-0.094·Leu2192	-0.084·Leu807	-0.017·Glu849	+0.131·Gly2238
-0.109·Phe2358	Phe934	-0.022·Ile932	-0.089·Ile2356
-0.139·Val2240	+0.018·Val851	-0.058·Ser774	Ser2165
-0.167·Lys2187	-0.073·Lys802	-0.073·Lys802	-0.134·Lys2187
-0.185·Asp2357	+0.030·Asp933	-0.084·Leu807	-0.103·Leu2192
-0.249·Pro2169	Pro778	-0.133·Asp805	+0.219·Glu2190
-0.553·Leu2185	Ile800	-0.162·Thr856	Thr2245
—	—	-0.481·Ile848	+0.362·Ile2237

Fonte: Do autor (2025).

A Figura 5.17 apresenta as principais interações estabelecidas entre o composto mais ativo do conjunto, 28A, e os resíduos de aminoácidos do sítio ativo. Em R1, o substituinte metoxicarbonil, ligado ao anel de piperidina, estabelece duas ligações de hidrogênio, uma com Ser2165 e outra com Gln2167. Em R2, o oxigênio do anel morfolina forma ligação de hidrogênio com Val2240, enquanto em R3 a hidroxila do álcool benzílico interage por ligações de hidrogênio com Asp2191 e Gln2194. Além dessas interações específicas, destaca-se a interação do grupo ureia com Asp2357, observada em todos os ligantes analisados.

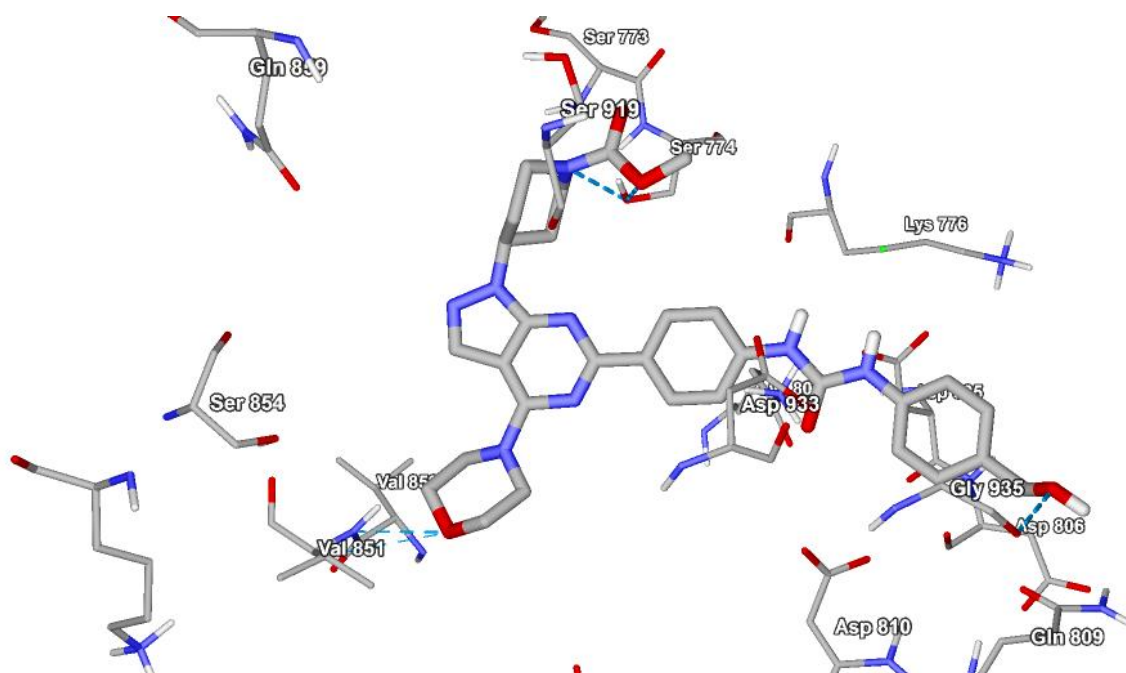
A Figura 5.18 mostra as interações do composto 28A com a enzima PI3K α . Em R1, observa-se agora uma ligação de hidrogênio entre o nitrogênio do anel de piperidina e Ser774, além de uma interação com o grupo éster. Em R2, não houve mudança. Já em R3, a hidroxila do álcool benzílico passa a formar ligações de hidrogênio com Gly935, enquanto a interação com o grupo ureia com o Asp805 prevalece no conjunto como um todo.

Figura 5.17 – Representação gráfica das interações entre o composto 28A com o sitio ativo da enzima mTOR.



Fonte: do autor (2025).

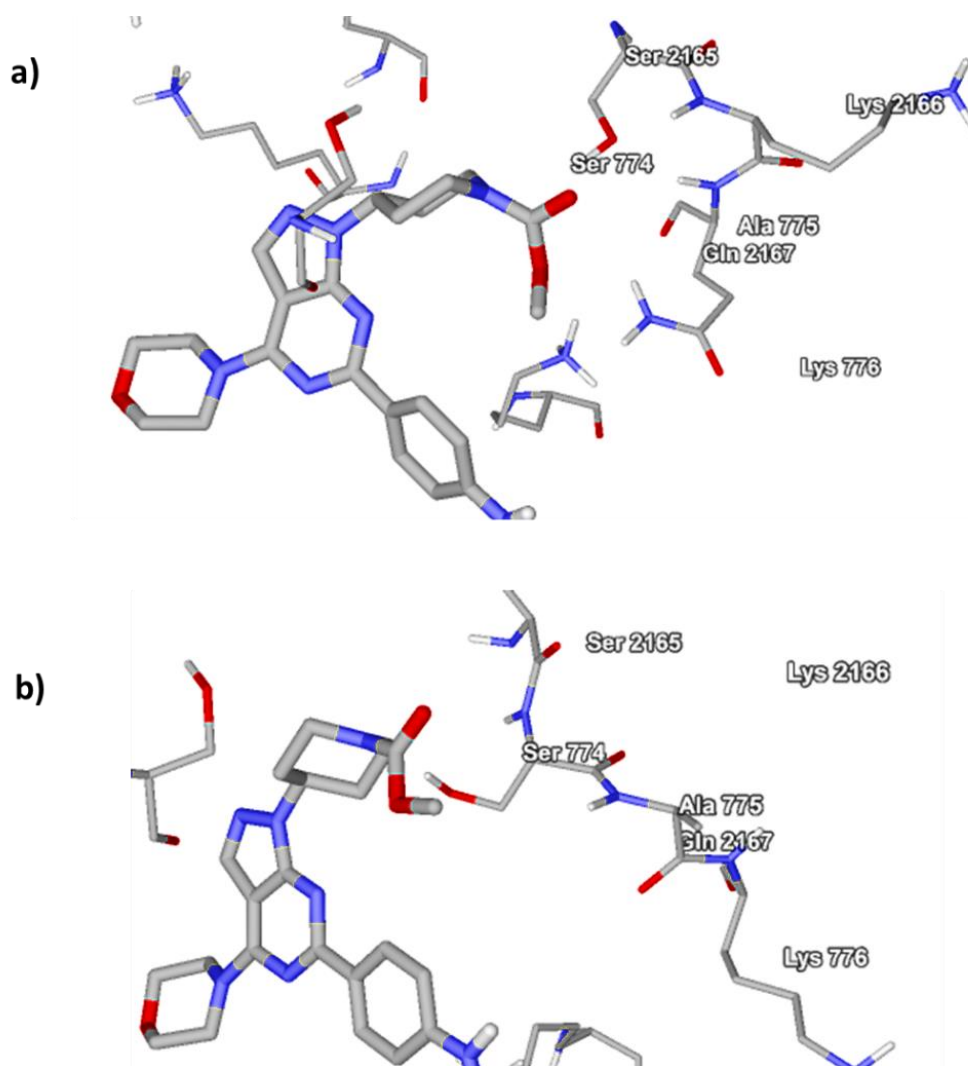
Figura 5.18 – Representação gráfica das interações entre o composto 28A com o sitio ativo da enzima PI3K α .



Fonte: do autor (2025).

Uma diferença estrutural relevante a ser considerada refere-se ao par de resíduos correspondentes Gln2167 e Lys776. A organização tridimensional dessa região pode favorecer, na enzima mTOR (Figura 5.19 a)), a formação de mais ligações de hidrogênio em R1, em comparação à PI3K (Figura 5.19 b)). Esse favorecimento ocorre devido à presença de grupos polares, sobretudo a hidroxila da Ser2165 e o grupo amino da Gln2167. Entretanto, essa mesma configuração na mTOR pode gerar maior impedimento estérico em relação à PI3K α , desfavorecendo a acomodação de grupos volumosos e hidrofóbicos em R1. O segundo composto menos ativo da mTOR possui uma piperidina N-substituída por 3-piridilmetil em R1, sugerindo que esse fator pode contribuir para a atividade reduzida do ligante.

Figura 5.19 – Representação gráfica das interações entre o composto 28A com o sitio ativo da enzima mTOR e PI3K α .

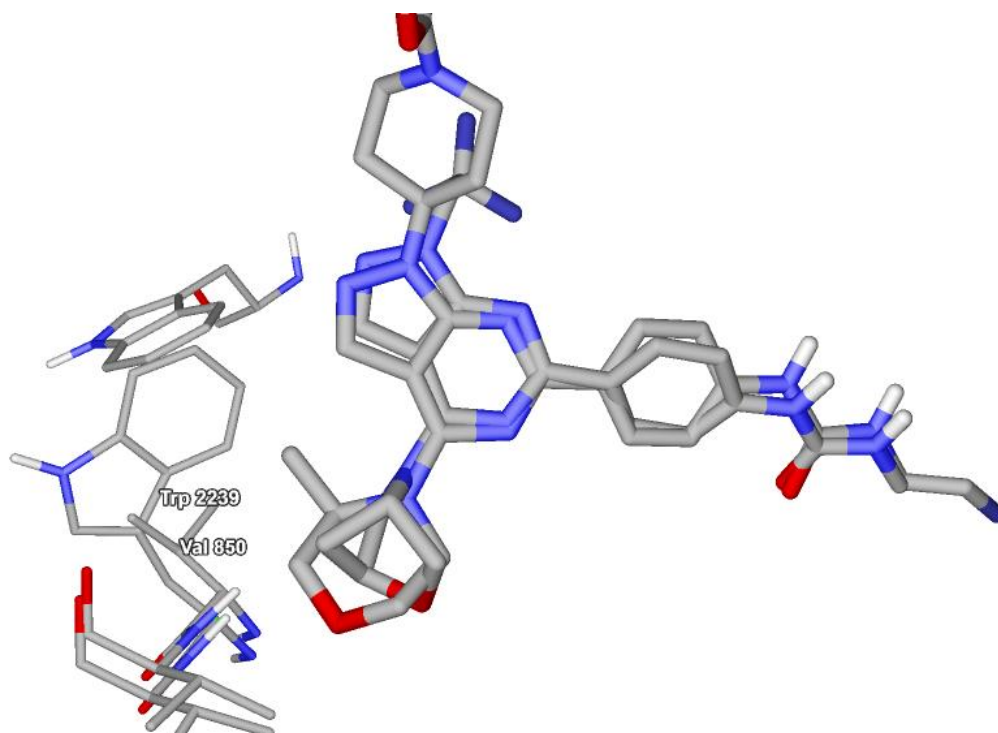


Legenda: a) sitio ativo da enzima mTOR; b) sitio ativo da enzima PI3K α .

Fonte: do autor (2025).

Os resíduos Trp2239 e Val850 apresentam coeficientes positivos nas equações 5.2 e 5.4, o que indica contribuição desfavorável para o aumento da potência dos inibidores. A Figura 5.20 mostra que ambos se localizam em regiões relevantes para os substituintes em R2. Nesse contexto, foram comparados os compostos menos ativos, 43B (mTOR) e 49B (PI3K α). O composto 43B apresenta um anel morfolina com ponte metileno em R2, enquanto o 49B possui um grupo 3-metilmorfolina, destacando-se no conjunto por serem alguns dos poucos exemplos com substituintes volumosos nessa posição. Como ilustrado na Figura 5.21, o resíduo Trp2239 causa um impedimento estérico significativo na mTOR, desfavorecendo grupos volumosos em R2, ao passo que a Val850 não exerce o mesmo efeito de forma expressiva. Ainda assim, apesar de seu coeficiente positivo elevado, a região associada à Val850 pode ser explorada nos compostos protótipos, visando investigar um possível ponto de seletividade.

Figura 5.20 – Representação gráfica das interações entre os compostos menos ativos 43B e 49B com os resíduos Trp2239 e Val850.

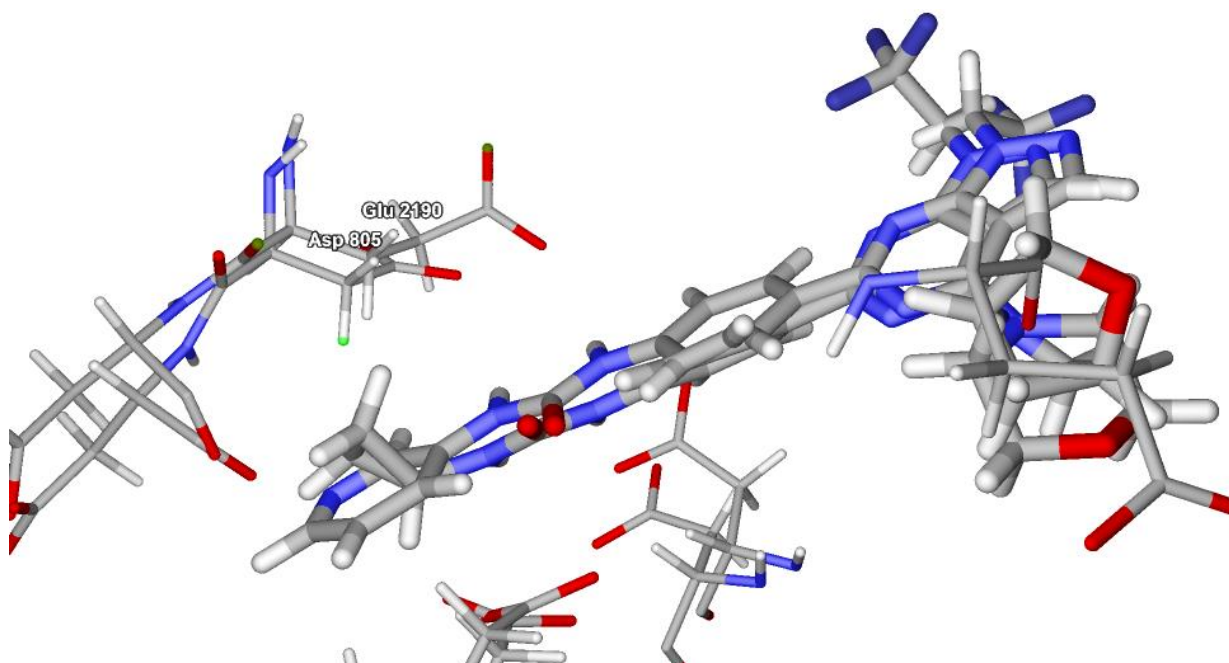


Fonte: do autor (2025).

Para analisar a posição R3, foram comparados os compostos 45B (terceiro menos ativo para mTOR) e 33B (segundo mais ativo para PI3K α), apresentados na Figura 5.21. Uma diferença estrutural relevante nessa região refere-se aos resíduos correspondentes Glu2190 e

Asp805. O maior tamanho da porção apolar de Glu2190 pode reduzir o espaço disponível para grupos volumosos em R3 ou desfavorecer interações com grupos polares. De fato, o composto 45B apresenta um grupo relativamente volumoso nessa posição, e, considerando que o coeficiente de Glu2190 é positivo, grupos grandes devem ser evitados. Por outro lado, na enzima PI3K α , o resíduo Asp805 não apresenta essa limitação de espaço e, possuindo coeficiente negativo, grupos capazes de formar ligações de hidrogênio nessa região tendem a favorecer a atividade.

Figura 5.21 – Representação gráfica da região de interação entre os compostos 45B e 33B com os resíduos Glu2190 e Asp805.



Fonte: do autor (2025).

Com base nessas observações, e considerando também as características estruturais do conjunto de moléculas analisadas, foram idealizadas novas propostas de potenciais inibidores, obtidas por meio de modificações nos substituintes R1, R2 e R3, conforme apresentado na Tabela 5.4.

Tabela 5.4 – Estruturas, valores de energia (MolDock, interação intermolecular e ligações de hidrogênio) em kcal·mol⁻¹, e valores de pIC₅₀ estimados para proposta para mTOR e (PI3K α). (continua)

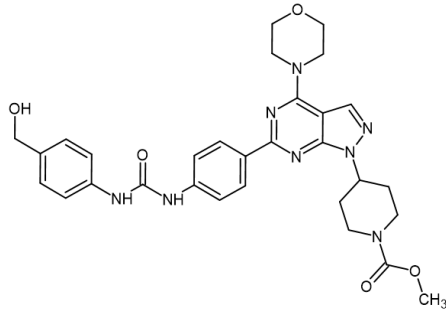
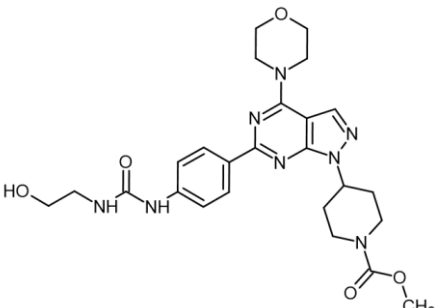
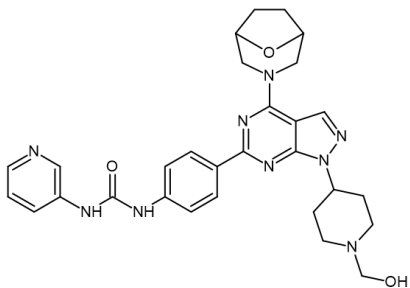
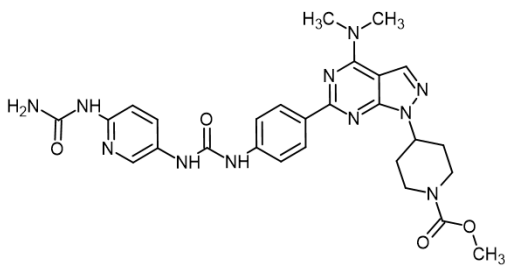
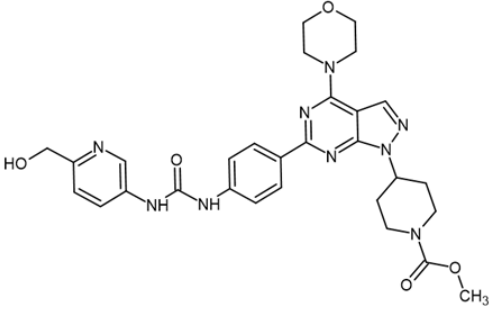
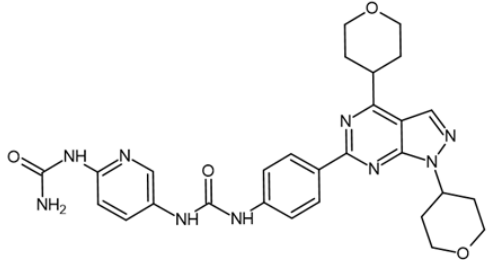
Comp.	Estrutura	Moldock	Intermol.	Lig. H	pIC ₅₀ Pred.***)
28A		-148,53 (-84,79)	-181,50 (-121,79)	-6,46 (-0,87)	10,1 ^E (8,2)
PB1		-159,90 (-109,14)	-173,46 (-137,45)	-9,06 (-6,56)	10,52 [*] (4,64) ^{**}
PB2		-148,94 (-71,74)	-185,20 (-110,15)	-9,02 (-3,32)	10,49 [*] (5,89) ^{**}
PB3		-103,14 (-109,78)	-137,21 (-132,87)	2,70 (-0,93)	9,34 [*] (8,54) ^{**}

Tabela 5.4 – Estruturas, valores de energia (MolDock, interação intermolecular e ligações de hidrogênio) em kcal·mol⁻¹, e valores de pIC₅₀ estimados para proposta para mTOR e (PI3K α). (conclusão)

Comp.	Estrutura	Moldock	Intermol.	Lig. H	pIC ₅₀ Pred. ^{*(**)}
PB4		-130,56 (-94,44)	-167,64 (-126,19)	-9,42 (-1,93)	8,60* (8,35)**
PB5		-104.67 (-100.58)	-133.54 (-132.77)	-3.96 (-5.96)	8.58* (8.28)**

*valor previsto pela equação 5.3

(**) valor previsto pela equação 5.4

Evalor experimental

Fonte: do autor (2025).

A análise dos compostos PB1–PB5 (Tabela 5.4) confirma de maneira prática os padrões já observados para as posições R1, R2 e R3. O derivado PB1, modificado com um grupo pequeno em R3, reforça a tendência de que substituintes de menor volume favorecem a atividade em mTOR, apresentando valores de MolDock, energia de ligação de hidrogênio e pIC₅₀ superiores aos do 28A nessa enzima. Esse desempenho, aliado ao menor valor de pIC₅₀ para PI3K α , evidencia seu potencial de seletividade em favor da mTOR.

O composto PB2 demonstrou que o impedimento estérico em R2 não é tão limitante quanto inicialmente previsto, já que manteve bom desempenho frente à mTOR, com energias próximas às do 28A e valor de pIC₅₀ mais elevado. Esse comportamento, contrastado com sua baixa resposta em PI3K α , reforça um perfil preferencial à mTOR.

Por outro lado, PB3 destacou-se como o protótipo de maior atividade frente à PI3K α , superando o 28A em todos os parâmetros. Embora tenha apresentado energias globais menos negativas, indicativas de complexos menos estáveis, manteve valores satisfatórios de pIC₅₀ para mTOR, sugerindo características compatíveis com um potencial inibidor dual.

As propostas PB4 e PB5 apresentaram valores de energia e pIC₅₀ superiores aos do composto 28A em PI3K α , enquanto seus parâmetros em mTOR foram pouco expressivos, sugerindo um perfil seletivo para essa enzima. A comparação entre PB3 e PB5 evidencia a influência que variações em R1 e R2 tem sobre a formação e estabilidade de ligações de hidrogênio na enzima PI3K α . Mantendo o mesmo substituinte em R3 e alterando R1 e R2, observou-se um aumento de seis vezes na energia de ligação de hidrogênio, ressaltando o papel crítico desses grupos na interação com o sítio ativo.

De modo geral, os resultados confirmam que ajustes sutis em R3 favorecem a seletividade entre mTOR e PI3K α , enquanto modificações em R1 e R2 permitem explorar interações-chave no sítio ativo. Nesse contexto, os protótipos PB1 e PB3 se destacam como candidatos preferenciais, o primeiro pelo perfil seletivo para mTOR e o segundo por combinar maior atividade frente a PI3K α com potencial de inibição dual, refletindo um equilíbrio ideal entre eficácia e seletividade.

6 CONCLUSÃO

Neste trabalho, as análises de ancoramento molecular foram realizadas sobre duas séries de moléculas: o grupo A, com núcleo central N-[4-(1,3,5-triazin-2-yl)fenil]ureia, e o grupo B, com núcleo 6-fenil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina. Para ambas as séries, foram utilizados descritores moleculares baseados nas energias de interação entre os ligantes e os resíduos do sítio ativo das enzimas, que foram correlacionados com a atividade biológica (pIC_{50}) por meio da regressão linear múltipla (MLR). Os modelos obtidos para os grupos A e B apresentaram bons coeficientes de correlação, tanto para o conjunto de treinamento quanto para o de teste. Para o grupo A, os valores foram de 0,73 (treinamento) e 0,73 (teste) em mTOR, e 0,72 (treinamento) e 0,78 (teste) em PI3K α . Já para o grupo B, os coeficientes foram de 0,77 (treinamento) e 0,73 (teste) em mTOR, e 0,73 (treinamento) e 0,80 (teste) em PI3K α . Esses resultados validam a robustez dos modelos e permitiram investigar as contribuições individuais de cada resíduo, identificando resíduos-chave e padrões de afinidade associados à potência dos inibidores.

Para o grupo A foram propostas cinco novas moléculas (PA1–PA5) com alterações em R1, R2 e R3, visando otimizar potência e seletividade. PA1 e PA2 mostraram preferência por mTOR, enquanto PA3–PA5 indicaram seletividade para PI3K α . Esses resultados evidenciam que substituintes volumosos em R3 favorecem a seletividade para mTOR, enquanto grupos menores em R1 favorecem a seletividade para PI3K α . Para o grupo B os compostos PB1–PB5 confirmaram que pequenas alterações em R3 modulam a seletividade entre mTOR e PI3K α , enquanto variações em R1 e R2 influenciam interações-chave no sítio ativo. PB1 se destacou pela seletividade para mTOR e PB3 pelo equilíbrio entre atividade em PI3K α e potencial inibição dual.

Como perspectivas futuras, este trabalho poderá ser complementado por estudos de dinâmica molecular, capazes de considerar a flexibilidade das proteínas e os efeitos do solvente. Essa abordagem permitirá identificar, entre os compostos propostos, aqueles com maior afinidade e estabilidade frente às enzimas, indicando-os como candidatos preferenciais para síntese e posterior validação em ensaios experimentais. Adicionalmente, a aplicação de métodos híbridos, que integrem mecânica molecular e química quântica, contribuirá para validar de forma mais robusta os cálculos realizados e aprofundar a compreensão das interações moleculares.

REFERÊNCIAS

ABDELSATTAR, A. S.; DAWOUD, A.; HELAL, M. A. Interaction of nanoparticles with biological macromolecules: A review of molecular docking studies. **Nanotoxicology**, 15, n. 1, p. 66-95, 2021.

ADELUSI, T. I.; OYEDELE, A.-Q. K.; BOYENLE, I. D.; OGUNLANA, A. T. *et al.* Molecular modeling in drug discovery. **Informatics in Medicine Unlocked**, 29, p. 100880, 2022.

ALVES, C. L.; DITZEL, H. J. Drugging the PI3K/AKT/mTOR Pathway in ER plus Breast Cancer. **International Journal of Molecular Sciences**, 24, n. 5, Mar 2023. Review.

AL-BARI, M. A. A.; XU, P. Molecular regulation of autophagy machinery by mTOR-dependent and-independent pathways. **Annals of the New York Academy of Sciences**, 1467, n. 1, p. 3-20, 2020.

ARCARO, A.; WYMANN, M. P. Wortmannin is a potent phosphatidylinositol 3-kinase inhibitor: the role of phosphatidylinositol 3, 4, 5-trisphosphate in neutrophil responses. **Biochemical Journal**, 296, n. 2, p. 297-301, 1993.

ARKUN, Y. Modeling and Analysis of the Cross-talk Regulators Between the AKT and ERK Signaling Pathways. *In: IFAC PAPERSONLINE*, 2019, **52**. 2019. p. 520-525. DOI: 10.1016/j.ifacol.2019.06.115. Proceedings Paper. Acesso em: 2019-07-16.

AWATA, L. A. O.; OUEDRAOGO, A. P.; KACHIGUMA, N. A.; GMAKOUBA, T. J. *et al.* The perspective of the chemical signature of life: The structure and function of proteins. **Journal of Chemical Biochemical Engineering**, 4, p. 18-30, 2020.

BASKARAN, P.; MIHAYLOV, S. R.; VINSLAND, E.; SHAH, K. *et al.* Phosphorylation of the novel mTOR substrate Unkempt regulates cellular morphogenesis. **Journal of Biological Chemistry**, 299, n. 1, 2023.

BASU, A.; LAMBRING, C. B. Akt isoforms: a family affair in breast cancer. **Cancers**, 13, n. 14, p. 3445, 2021.

BATTAGLIONI, S.; BENJAMIN, D.; WÄLCHLI, M.; MAIER, T. *et al.* mTOR substrate phosphorylation in growth control. **Cell**, 185, n. 11, p. 1814-1836, 2022.

BERGAMINI, G.; BELL, K.; SHIMAMURA, S.; WERNER, T. *et al.* A selective inhibitor reveals PI3K γ dependence of T_H17 cell differentiation. **NATURE CHEMICAL BIOLOGY**, 8, n. 6, p. 576-582, JUN 2012.

BILANGES, B.; POSOR, Y.; VANHAESEBROECK, B. PI3K isoforms in cell signalling and vesicle trafficking. **Nature reviews Molecular cell biology**, 20, n. 9, p. 515-534, 2019.

BROWN, J. S.; BANERJI, U. Maximising the potential of AKT inhibitors as anti-cancer treatments. **Pharmacology & therapeutics**, 172, p. 101-115, 2017.

- BURKE, J. E. Structural basis for regulation of phosphoinositide kinases and their involvement in human disease. **Molecular cell**, 71, n. 5, p. 653-673, 2018.
- BÉDARD, P. L.; DAVIES, M. A.; KOPETZ, S.; JURIC, D. *et al.* First-in-Human Trial of the PI3K β -Selective Inhibitor SAR260301 in Patients With Advanced Solid Tumors. **CANCER**, 124, n. 2, p. 315-324, JAN 15 2018.
- CHAUHAN, N.; PALIWAL, S.; SHARMA, S.; JAIN, S. *et al.* Decoding the molecular Symphony: Unravelling neurologically crucial GSK-3 inhibition through 2D QSAR modelling with MLR, PLS, and ANN approaches. **RESULTS IN CHEMISTRY**, 8, JUN 2024.
- CHEN, Y.; HUANG, L.; DONG, Y.; TAO, C. *et al.* Effect of AKT1 (p. E17K) hotspot mutation on malignant tumorigenesis and prognosis. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, 8, p. 573599, 2020.
- CHI, Y. Y. Multivariate methods. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Statistics**, 4, n. 1, p. 35-47, 2012.
- CHOO, A. Y.; YOON, S.-O.; KIM, S. G.; ROUX, P. P. *et al.* Rapamycin differentially inhibits S6Ks and 4E-BP1 to mediate cell-type-specific repression of mRNA translation. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 105, n. 45, p. 17414-17419, 2008.
- CHU, N.; VIENNET, T.; BAE, H.; SALGUERO, A. *et al.* The structural determinants of PH domain-mediated regulation of Akt revealed by segmental labeling. **Elife**, 9, p. e59151, 2020.
- DAVOODI-MOGHADDAM, Z.; JAFARI-RADDANI, F.; DELSHAD, M.; POURBAGHERI-SIGAROODI, A. *et al.* Inhibitors of the PI3K/AKT/mTOR pathway in human malignancies; trend of current clinical trials. **Journal of Cancer Research and Clinical Oncology**, 149, n. 16, p. 15293-15310, 2023.
- DE VERA, A. A.; GUPTA, P.; LEI, Z. N.; LIAO, D. *et al.* Immuno-oncology agent IPI-549 is a modulator of P-glycoprotein (P-gp, MDR1, ABCB1)-mediated multidrug resistance (MDR) in cancer: *In vitro* and *in vivo*. **CANCER LETTERS**, 442, p. 91-103, FEB 1 2019.
- DENG, Z.; QING, Q.; HUANG, B. A bibliometric analysis of the application of the PI3K-AKT-mTOR signaling pathway in cancer. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, 2024. Review; Early Access.
- DOMINGUEZ, J. F.; ROSBERGER, H.; GARELL, P.; GANDHI, C. D. *et al.* First, second, and third generation mTOR pathways inhibitors for treatment of glioblastoma. **Cancer Research**, 82, n. 12_Supplement, p. 5410-5410, 2022.
- DONG, L.; DU, H.; ZHANG, M.; XU, H. *et al.* Anti-inflammatory effect of Rhein on ulcerative colitis via inhibiting PI3K/Akt/mTOR signaling pathway and regulating gut microbiota. **PHYTOTHERAPY RESEARCH**, 36, n. 5, p. 2081-2094, 2022 MAY 2022. Article.

ESPINOSA-CANTÚ, A.; CRUZ-BONILLA, E.; NODA-GARCIA, L.; DELUNA, A. Multiple forms of multifunctional proteins in health and disease. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, 8, p. 451, 2020.

EVANGELISTI, C.; CHIARINI, F.; PAGANELLI, F.; MARMIROLI, S. *et al.* Crosstalks of GSK3 signaling with the mTOR network and effects on targeted therapy of cancer. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research**, 1867, n. 4, p. 118635, 2020.

FERNANDES, Í. A.; DE ASSIS, T. M.; ROSA, I. A.; FERREIRA DA CUNHA, E. F. Indolin-2-one Derivatives: Theoretical Studies Aimed at Finding More Potent Aurora B Kinase Inhibitors. **Letters in Drug Design & Discovery**, 16, n. 2, p. 138-152, 2019.

FLACHSENBERG, F.; EHRT, C.; GUTERMUTH, T.; RAREY, M. Redocking the PDB. **Journal of Chemical Information and Modeling**, 64, n. 1, p. 219-237, 2023.

GASTEIGER, J.; MARSILI, M. Iterative partial equalization of orbital electronegativity—a rapid access to atomic charges. **Tetrahedron**, 36, n. 22, p. 3219-3228, 1980.

GIACOPPO, S.; BRAMANTI, P.; MAZZON, E. Triggering of inflammasome by impaired autophagy in response to acute experimental Parkinson's disease: involvement of the PI3K/Akt/mTOR pathway. **Neuroreport**, 28, n. 15, p. 996-1007, 2017.

GIOIELLO, A.; PICCINNO, A.; LOZZA, A. M.; CERRA, B. The medicinal chemistry in the era of machines and automation: recent advances in continuous flow technology. **Journal of medicinal chemistry**, 63, n. 13, p. 6624-6647, 2020.

GOLBRAIKH, A.; WANG, X. S.; ZHU, H.; TROPSHA, A. Predictive QSAR modeling: methods and applications in drug discovery and chemical risk assessment. **Handbook of computational chemistry**, p. 1-48, 2016.

GUERRERO-ZOTANO, A.; MAYER, I. A.; ARTEAGA, C. L. PI3K/AKT/mTOR: role in breast cancer progression, drug resistance, and treatment. **Cancer and Metastasis Reviews**, 35, p. 515-524, 2016.

HAIR, J. F.; BLACK, W. C.; BABIN, B. J.; ANDERSON, R. E. Multivariate data analysis (7th Edn Pearson new international edition). **Harlow, Essex: Pearson Education**, 2014.

HALDER, A. K.; CORDEIRO, M. N. D. S. AKT Inhibitors: The Road Ahead to Computational Modeling-Guided Discovery. **INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR SCIENCES**, 22, n. 8, 2021 APR 2021. Article.

HANADA, M.; FENG, J.; HEMMINGS, B. A. Structure, regulation and function of PKB/AKT—a major therapeutic target. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics**, 1697, n. 1-2, p. 3-16, 2004.

HE, Y.; SUN, M. M.; ZHANG, G. G.; YANG, J. *et al.* Targeting PI3K/Akt signal transduction for cancer therapy. **Signal transduction and targeted therapy**, 6, n. 1, p. 425, 2021.

HERKO, A.; MAVIS, C.; CZUCZMAN, M. S.; HERNANDEZ, F. AMG 319, a Novel Inhibitor of Phosphoinositide-3 Kinase Delta (PI3Kd), Demonstrates Activity in Lymphoma Pre-Clinical Models. **BLOOD**, 120, n. 21, NOV 16 2012.

HERRERIAS, M. M.; BUDINGER, G. R. S. Revisiting mTOR and Epithelial–Mesenchymal Transition. *American Thoracic Society*. 62: 669-670 p. 2020.

HOONDERT, R. P. J.; OLDENKAMP, R.; DE ZWART, D.; VAN DE MEENT, D. *et al.* QSAR-based estimation of species sensitivity distribution parameters: An exploratory investigation. **Environmental Toxicology and Chemistry**, 38, n. 12, p. 2764-2770, 2019.

HUANG, T.; UN, X.; MENG, X.; LIN, M. Phosphoinositide-3 Kinase/Protein Kinase-B/Mammalian Target of Rapamycin Pathway in Psoriasis Pathogenesis. A Potential Therapeutic Target? **ACTA DERMATO-VENEREOLOGICA**, 94, n. 4, p. 371-379, 2014 2014. Review.

HUANG, X.; LIU, G.; GUO, J.; SU, Z. The PI3K/AKT pathway in obesity and type 2 diabetes. **International journal of biological sciences**, 14, n. 11, p. 1483, 2018.

JIA, Y.; MO, S.-J.; FENG, Q.-Q.; ZHAN, M.-L. *et al.* EPO-dependent activation of PI3K/Akt/FoxO3a signalling mediates neuroprotection in in vitro and in vivo models of Parkinson's disease. **Journal of Molecular Neuroscience**, 53, p. 117-124, 2014.

KANG, S. A.; PACOLD, M. E.; CERVANTES, C. L.; LIM, D. *et al.* mTORC1 phosphorylation sites encode their sensitivity to starvation and rapamycin. **Science**, 341, n. 6144, p. 1236566, 2013.

KIM, J.; GUAN, K. L. mTOR as a central hub of nutrient signalling and cell growth. **NATURE CELL BIOLOGY**, 21, n. 1, p. 63-71, JAN 2019.

KOCHEN, M. A.; ANDREWS, S. S.; WILEY, H. S.; FENG, S. *et al.* Dynamics and Sensitivity of Signaling Pathways. **CURRENT PATHOBIOLOGY REPORTS**, 10, n. 2, p. 11-22, JUN 2022.

KUMAR, S.; KUMAR, S. Molecular docking: a structure-based approach for drug repurposing. *In: In Silico Drug Design*: Elsevier, 2019. p. 161-189.

LINDE-GARELLI, K. Y.; ROGALA, K. B. Structural mechanisms of the mTOR pathway. **CURRENT OPINION IN STRUCTURAL BIOLOGY**, 82, 2023 OCT 2023. Article.

LIU, G. Y.; SABATINI, D. M. mTOR at the nexus of nutrition, growth, ageing and disease. **NATURE REVIEWS MOLECULAR CELL BIOLOGY**, 21, n. 4, p. 183-203, APR 2020.

LO, W.-T.; ZHANG, Y.; VADAS, O.; ROSKE, Y. *et al.* Structural basis of phosphatidylinositol 3-kinase C2 α function. **Nature structural & molecular biology**, 29, n. 3, p. 218-228, 2022.

LOIBL, S.; REINISCH, M.; DENKERT, C.; FASCHING, P. A. *et al.* A randomized, open-label, phase II trial comparing neoadjuvant trastuzumab, pertuzumab and endocrine therapy +/- the PI3K inhibitor inavolisib in patients (pts) with HER2+/HR+, PIK3CA mutant early

breast cancer (BC)-GeparPiPPa. **ANNALS OF ONCOLOGY**, 33, n. 7, p. S627-S627, SEP 2022.

LU, Z.; SHI, X.; GONG, F.; LI, S. *et al.* RICTOR/mTORC2 affects tumorigenesis and therapeutic efficacy of mTOR inhibitors in esophageal squamous cell carcinoma. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, 10, n. 6, p. 1004-1019, 2020.

LUGANO, R.; RAMACHANDRAN, M.; DIMBERG, A. Tumor angiogenesis: causes, consequences, challenges and opportunities. **Cellular and Molecular Life Sciences**, 77, p. 1745-1770, 2020.

LUO, S.; KANG, S. S.; WANG, Z.-H.; LIU, X. *et al.* Akt phosphorylates NQO1 and triggers its degradation, abolishing its antioxidative activities in Parkinson's disease. **Journal of Neuroscience**, 39, n. 37, p. 7291-7305, 2019.

MACKERELL JR, A. D.; BASHFORD, D.; BELLOTT, M.; DUNBRACK JR, R. L. *et al.* All-atom empirical potential for molecular modeling and dynamics studies of proteins. **The journal of physical chemistry B**, 102, n. 18, p. 3586-3616, 1998.

MAINES, E.; FRANCESCHI, R.; MARTINELLI, D.; SOLI, F. *et al.* Hypoglycemia due to PI3K/AKT/mTOR signaling pathway defects: two novel cases and review of the literature. **Hormones-International Journal of Endocrinology and Metabolism**, 20, n. 4, p. 623-640, Dec 2021. Review.

MANGÉ, A.; COYAUD, E.; DESMETZ, C.; LAURENT, E. *et al.* FKBP4 connects mTORC2 and PI3K to activate the PDK1/Akt-dependent cell proliferation signaling in breast cancer. **Theranostics**, 9, n. 23, p. 7003, 2019.

MANNING, B. D.; TOKER, A. AKT/PKB signaling: navigating the network. **Cell**, 169, n. 3, p. 381-405, 2017.

MARTÍNEZ-SÁEZ, O.; CHIC, N.; PASCUAL, T.; ADAMO, B. *et al.* Frequency and spectrum of PIK3CA somatic mutations in breast cancer. **Breast cancer research**, 22, p. 1-9, 2020.

MATEO, J.; GANJI, G.; LEMECH, C.; BURRIS, H. A. *et al.* A First-Time-in-Human Study of GSK2636771, a Phosphoinositide 3 Kinase Beta-Selective Inhibitor, in Patients with Advanced Solid Tumors. **CLINICAL CANCER RESEARCH**, 23, n. 19, p. 5981-5992, OCT 1 2017.

MIAO, R.; FANG, X.; WEI, J.; WU, H. *et al.* Akt: a potential drug target for metabolic syndrome. **Frontiers in Physiology**, 13, p. 822333, 2022.

MORRIS, R.; BLACK, K. A.; STOLLAR, E. J. Uncovering protein function: from classification to complexes. **Essays in Biochemistry**, 66, n. 3, p. 255-285, 2022.

MUKHERJEE, R.; VANAJA, K. G.; BOYER, J. A.; GADAL, S. *et al.* Regulation of PTEN translation by PI3K signaling maintains pathway homeostasis. **MOLECULAR CELL**, 81, n. 4, p. 708+, FEB 18 2021.

NAIR, A.; CHAUHAN, P.; SAHA, B.; KUBATZKY, K. F. Conceptual Evolution of Cell Signaling. **INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR SCIENCES**, 20, n. 13, JUL 1 2019.

NARAYAN, R. S.; FEDRIGO, C. A.; BRANDS, E.; DIK, R. *et al.* The allosteric AKT inhibitor MK2206 shows a synergistic interaction with chemotherapy and radiotherapy in glioblastoma spheroid cultures. **BMC cancer**, 17, p. 1-8, 2017.

NUNES, C. A.; FREITAS, M. P.; PINHEIRO, A. C. M.; BASTOS, S. C. Chemoface: a novel free user-friendly interface for chemometrics. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 23, p. 2003-2010, 2012.

OUVRY, G.; CLARY, L.; TOMAS, L.; AURELLY, M. L. *et al.* Impact of minor structural modifications on properties of a series of mTOR inhibitors. **ACS Medicinal Chemistry Letters**, 10, n. 11, p. 1561-1567, 2019.

PENG, Y.; WANG, Y.; ZHOU, C.; MEI, W. *et al.* PI3K/Akt/mTOR pathway and its role in cancer therapeutics: are we making headway? **Frontiers in oncology**, 12, p. 819128, 2022.

PINZI, L.; RASTELLI, G. Molecular docking: shifting paradigms in drug discovery. **International journal of molecular sciences**, 20, n. 18, p. 4331, 2019.

PISULA, M.; DRÓŹDŹ, E.; CHEŁMECKA, E. Molecular modeling as a stage of searching for new substances with potential therapeutic significance. **Annales Academiae Medicae Silesiensis**, 74, p. 91-98, 2020 2020.

POPOVA, N. V.; JÜCKER, M. The role of mTOR signaling as a therapeutic target in cancer. **International Journal of Molecular Sciences**, 22, n. 4, p. 1743, 2021.

PRABHU, K. S.; KUTTIKRISHNAN, S.; MARIYAM, Z.; HABEEBA, U. *et al.* PI3 K/AKT/mTOR pathway and its role in breast cancer stem cells. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, p. 1-17, 2025.

PUTYRSKI, M.; SCHULTZ, C. Protein translocation as a tool: The current rapamycin story. **FEBS LETTERS**, 586, n. 15, p. 2097-2105, JUL 16 2012.

RADAK, M.; FALLAHI, H. Cell-cell communication in stem cells and cancer: Alone but in touch. **FUNDAMENTAL & CLINICAL PHARMACOLOGY**, 2024 JAN 16 2024. Review Early Access.

RAI, S. N.; DILNASHIN, H.; BIRLA, H.; SINGH, S. S. *et al.* The role of PI3K/Akt and ERK in neurodegenerative disorders. **Neurotoxicity research**, 35, p. 775-795, 2019.

RAJENDRAN, P.; SEKAR, R.; DHAYASANKAR, P. S.; ALI, E. M. *et al.* PI3K/AKT signaling pathway mediated autophagy in oral carcinoma-a comprehensive review. **International Journal of Medical Sciences**, 21, n. 6, p. 1165, 2024.

RICHARD, D. J.; VERHEIJEN, J. C.; YU, K.; ZASK, A. Triazines incorporating (R)-3-methylmorpholine are potent inhibitors of the mammalian target of rapamycin (mTOR) with

selectivity over PI3K α . **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, 20, n. 8, p. 2654-2657, 2010.

ROSSETTI, S.; BROEGE, A.; SEN, A.; KHAN, S. *et al.* Gedatolisib shows superior potency and efficacy versus single-node PI3K/AKT/mTOR inhibitors in breast cancer models. **npj Breast Cancer**, 10, n. 1, p. 40, 2024/06/05 2024.

ROY, T.; BOATENG, S. T.; UDDIN, M. B.; BANANG-MBEUMI, S. *et al.* The PI3K-Akt-mTOR and Associated Signaling Pathways as Molecular Drivers of Immune-Mediated Inflammatory Skin Diseases: Update on Therapeutic Strategy Using Natural and Synthetic Compounds. **Cells**, 12, n. 12, Jun 2023. Review.

SAHU, D.; RATHOR, L. S.; DWIVEDI, S. D.; SHAH, K. *et al.* A Review on Molecular Docking As an Interpretative Tool for Molecular Targets in Disease Management. **ASSAY and Drug Development Technologies**, 22, n. 1, p. 40-50, 2024.

SCHALLER, D. A.; CHRIST, C. D.; CHODERA, J. D.; VOLKAMER, A. Benchmarking Cross-Docking Strategies in Kinase Drug Discovery. **Journal of Chemical Information and Modeling**, 64, n. 23, p. 8848-8858, 2024.

SCHNEIDER, N.; HINDLE, S.; LANGE, G.; KLEIN, R. *et al.* Substantial improvements in large-scale redocking and screening using the novel HYDE scoring function. **Journal of computer-aided molecular design**, 26, p. 701-723, 2012.

SCHÖTZ, U.; BALZER, V.; BRANDT, F.-W.; ZIEMANN, F. *et al.* Dual PI3K/mTOR inhibitor NVP-BEZ235 enhances radiosensitivity of head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) cell lines due to suppressed double-strand break (DSB) repair by non-homologous end joining. **Cancers**, 12, n. 2, p. 467, 2020.

SHARMA, A.; MEHAN, S. Targeting PI3K-AKT/mTOR signaling in the prevention of autism. **Neurochemistry International**, 147, Jul 2021. Review.

SIRICO, M.; D'ANGELO, A.; GIANNI, C.; CASADEI, C. *et al.* Current state and future challenges for PI3K inhibitors in cancer therapy. **Cancers**, 15, n. 3, p. 703, 2023.

SMITH, S. D.; GOPAL, A. K. Umbralisib: Walking the Tightrope of PI3K Inhibition in Indolent NHL. **JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY**, 39, n. 15, p. 1671-+, MAY 20 2021.

SONG, M.; BODE, A. M.; DONG, Z.; LEE, M.-H. AKT as a therapeutic target for cancer. **Cancer research**, 79, n. 6, p. 1019-1031, 2019.

STANZIONE, F.; GIANGRECO, I.; COLE, J. C. Use of molecular docking computational tools in drug discovery. **Progress in Medicinal Chemistry**, 60, p. 273-343, 2021.

STOLLAR, E. J.; SMITH, D. P.; PORTLAND, P. Uncovering protein structure. **Understanding Biochemistry** 6, 64, n. 4, p. 649-680, 2020.

SZWED, A.; KIM, E.; JACINTO, E. Regulation and metabolic functions of mTORC1 and mTORC2. **Physiological reviews**, 101, n. 3, p. 1371-1426, 2021.

THAPA, N.; HORN, H. T.; ANDERSON, R. A. Phosphoinositide spatially free AKT/PKB activation to all membrane compartments. **Advances in biological regulation**, 72, p. 1-6, 2019.

ULLO, M. F.; CASE, L. B. How cells sense and integrate information from different sources. **WIRES MECHANISMS OF DISEASE**, 15, n. 4, 2023 JUL 2023. Review.

VANHAESEBROECK, B.; PERRY, M. W. D.; BROWN, J. R.; ANDRÉ, F. *et al.* PI3K inhibitors are finally coming of age. **Nature reviews Drug discovery**, 20, n. 10, p. 741-769, 2021.

VANOMMESLAEGHE, K.; HATCHER, E.; ACHARYA, C.; KUNDU, S. *et al.* CHARMM general force field: A force field for drug-like molecules compatible with the CHARMM all-atom additive biological force fields. **Journal of computational chemistry**, 31, n. 4, p. 671-690, 2010.

VASANT, O. K.; CHANDRAKANT, M. A.; CHANDRASHEKHAR, K. V.; BABASAHEB, G. V. *et al.* A review on molecular docking. **International Research Journal of Pure and Applied Chemistry**, 22, n. 3, p. 60-68, 2021.

VENKATESAN, A. M.; CHEN, Z.; DOS SANTOS, O.; DEHNHARDT, C. *et al.* PKI-179: an orally efficacious dual phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K)/mammalian target of rapamycin (mTOR) inhibitor. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, 20, n. 19, p. 5869-5873, 2010.

VENKATESAN, A. M.; DEHNHARDT, C. M.; DELOS SANTOS, E.; CHEN, Z. *et al.* Bis (morpholino-1, 3, 5-triazine) derivatives: potent adenosine 5'-triphosphate competitive phosphatidylinositol-3-kinase/mammalian target of rapamycin inhibitors: discovery of compound 26 (PKI-587), a highly efficacious dual inhibitor. **Journal of medicinal chemistry**, 53, n. 6, p. 2636-2645, 2010.

VERHEIJEN, J. C.; RICHARD, D. J.; CURRAN, K.; KAPLAN, J. *et al.* 2-Arylureidophenyl-4-(3-oxa-8-azabicyclo [3.2. 1] octan-8-yl) triazines as highly potent and selective ATP competitive mTOR inhibitors: optimization of human microsomal stability. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, 20, n. 8, p. 2648-2653, 2010.

VITTORIO, S.; LUNGHINI, F.; MORERIO, P.; GADIOLI, D. *et al.* Addressing docking pose selection with structure-based deep learning: recent advances, challenges and opportunities. **Computational and Structural Biotechnology Journal**, 23, p. 2141-2151, 2024.

VLAHOS, C. J.; MATTER, W. F.; HUI, K. Y.; BROWN, R. F. A specific inhibitor of phosphatidylinositol 3-kinase, 2-(4-morpholinyl)-8-phenyl-4H-1-benzopyran-4-one (LY294002). **Journal of Biological Chemistry**, 269, n. 7, p. 5241-5248, 1994.

WADA, Y.; SUN-WADA, G. H. Positive and negative regulation of developmental signaling by the endocytic pathway. **CURRENT OPINION IN GENETICS & DEVELOPMENT**, 23, n. 4, p. 391-398, AUG 2013.

WANG, L.; TIAN, S.; RUAN, S.; WEI, J. *et al.* Neuroprotective effects of cordycepin on MPTP-induced Parkinson's disease mice via suppressing PI3K/AKT/mTOR and MAPK-mediated neuroinflammation. **Free Radical Biology and Medicine**, 216, p. 60-77, 2024.

WANG, W.; SHI, B.; CONG, R.; HAO, M. *et al.* RING-finger E3 ligases regulatory network in PI3K/AKT-mediated glucose metabolism. **Cell death discovery**, 8, n. 1, p. 372, 2022.

WIESE, W.; BARCZUK, J.; RACINSKA, O.; SIWECKA, N. *et al.* PI3K/Akt/mTOR Signaling Pathway in Blood Malignancies-New Therapeutic Possibilities. **Cancers**, 15, n. 21, Nov 2023. Review.

WYMANN, M. P.; PIROLA, L. Structure and function of phosphoinositide 3-kinases. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids**, 1436, n. 1-2, p. 127-150, 1998.

XU, F.; NA, L.; LI, Y.; CHEN, L. RETRACTED: Roles of the PI3K/AKT/mTOR signalling pathways in neurodegenerative diseases and tumours (Retracted Article). **Cell and Bioscience**, 10, n. 1, Apr 1 2020. Review; Retracted Publication.

YANG, H.; RUDGE, D. G.; KOOS, J. D.; VAIDIALINGAM, B. *et al.* mTOR kinase structure, mechanism and regulation. **Nature**, 497, n. 7448, p. 217-223, 2013.

YANG, H.; WANG, Y.; ZHAN, J.; XIA, Y. *et al.* Puquitinib mesylate, an inhibitor of phosphatidylinositol 3-kinase p110 δ , for treating relapsed or refractory non Hodgkin's lymphoma. **ONCOTARGET**, 6, n. 41, p. 44049-44056, DEC 22 2015.

YAZICI, M. Multivariate Analysis: Factor and Discriminant Analyses. *In*: **Machine Learning Techniques for Improved Business Analytics**: IGI Global Scientific Publishing, 2019. p. 40-63.

YU, L.; WEI, J.; LIU, P. Attacking the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway for targeted therapeutic treatment in human cancer. **Seminars in Cancer Biology**, 85, p. 69-94, Oct 2022.

ZASK, A.; KAPLAN, J.; VERHEIJEN, J. C.; RICHARD, D. J. *et al.* Morpholine derivatives greatly enhance the selectivity of mammalian target of rapamycin (mTOR) inhibitors. **J. Med. Chem.**, 52, p. 7942, 2009.

ZASK, A.; VERHEIJEN, J. C.; CURRAN, K.; KAPLAN, J. *et al.* ATP-competitive inhibitors of the mammalian target of rapamycin: design and synthesis of highly potent and selective pyrazolopyrimidines. **J. Med. Chem.**, 52, p. 5013, 2009.

ZHANG, X.; LI, J. Exploration of the Role of Computational Chemistry in Modern Drug Discovery. **Computational Molecular Biology**, 14, 2024.

ZHANG, Y.; NG, P. K.-S.; KUCHERLAPATI, M.; CHEN, F. *et al.* A pan-cancer proteogenomic atlas of PI3K/AKT/mTOR pathway alterations. **Cancer cell**, 31, n. 6, p. 820-832, 2017.

ZHOU, H.; LI, X.; RANA, M.; CORNELIUS, J. F. *et al.* mTOR inhibitor Rapalink-1 prevents ethanol-induced senescence in endothelial cells. **Cells**, 12, n. 22, p. 2609, 2023.

ZHU, J.; AVAKYAN, N.; KAKKIS, A.; HOFFNAGLE, A. M. *et al.* Protein Assembly by Design. **Chemical Reviews**, 121, n. 22, p. 13701-13796, 2021/11/24 2021.

ZYDEK, G.; BRZEZINSKA, E. Development and Validation of Quantitative Structure-Activity Relationship Models for Compounds Acting on Serotonergic Receptors. **SCIENTIFIC WORLD JOURNAL**, p. 1-11, 2012.

MATERIAL SUPLEMENTAR

Tabela S1 – Estruturas químicas e dados de atividade dos Ligantes (pIC₅₀) do Grupo A para mTOR/PI3K α .

(continua)

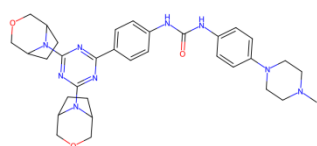
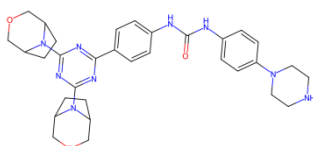
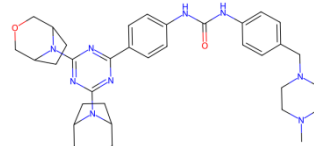
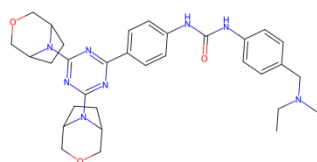
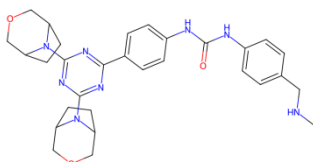
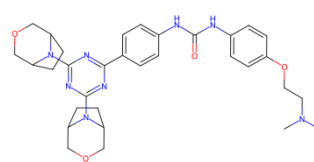
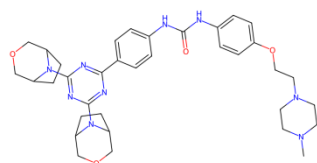
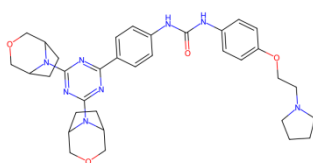
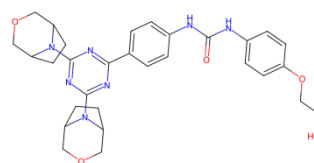
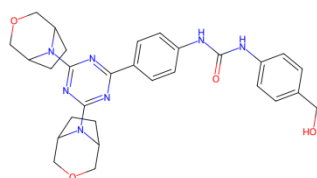
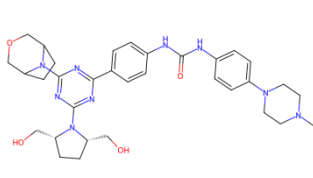
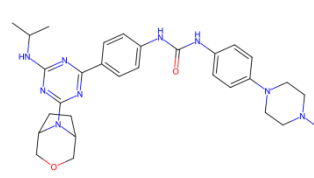
**1D (9,0/6,1)****2D (9,2/6,0)****3D (9,0/6,0)****4D (9,0/6,3)****5D (9,1/6,7)****6D (-/6,0)****7D (-/6,3)****8D (9,1/6,4)****9D (9,6/6,0)****10D (9,7/6,6)****15D (9,2/6,0)****16D (-/5,6)**

Tabela S1 - Estruturas químicas e dados de atividade dos Ligantes (pIC₅₀) do Grupo A para mTOR/PI3K α .
(continuação)

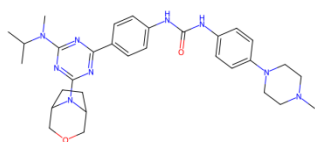
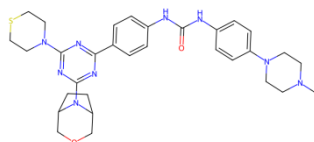
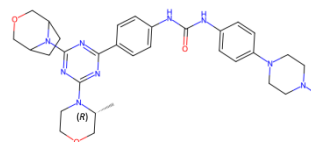
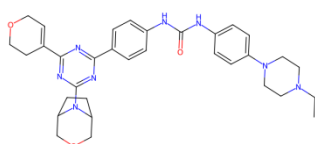
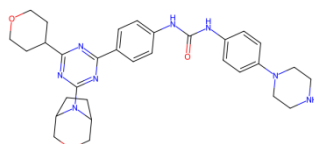
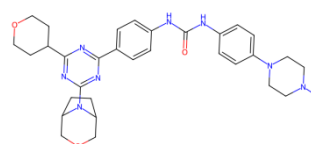
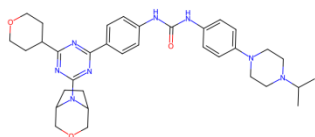
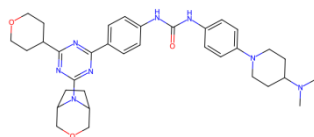
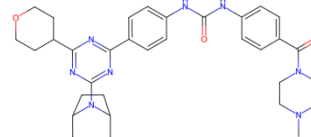
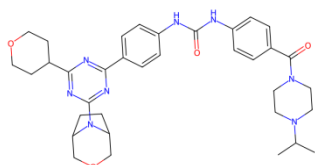
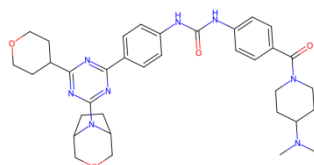
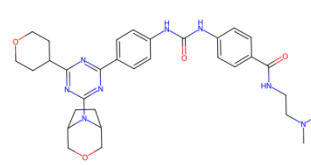
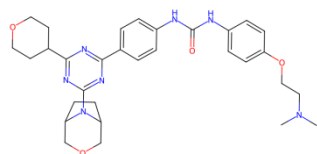
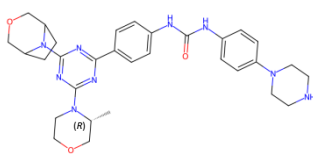
**17D (-/5,3)****18D (-/6,2)****19D (8,9/6,2)****20D (-/7,3)****22D (9,3/6,5)****23D (9,3/6,2)****24D (9,1/6,2)****25D (9,3/6,4)****26D (9,1/7,1)****27D (-/6,8)****28D (-/7,1)****29D (9,9/7,3)**

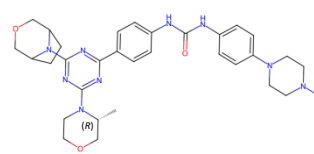
Tabela S1 - Estruturas químicas e dados de atividade dos Ligantes (pIC₅₀) do Grupo A para mTOR/PI3K α .
(continuação)



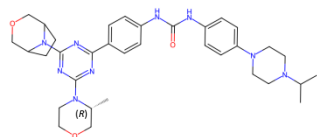
30D (9,2/6,1)



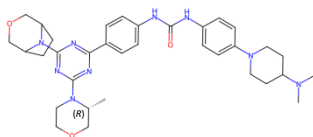
31D (9,4/6,0)



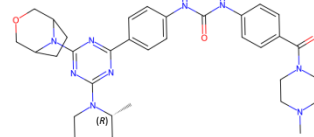
32D (8,9/6,0)



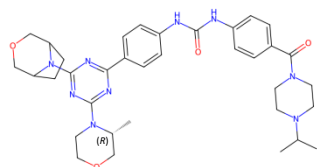
33D (8,9/6,0)



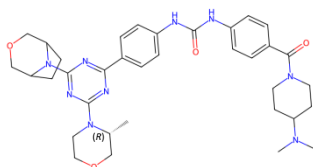
34D (9,0/6,4)



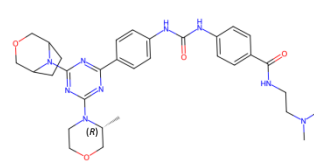
35D (9,2/6,4)



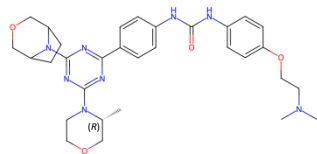
36D (-/7,0)



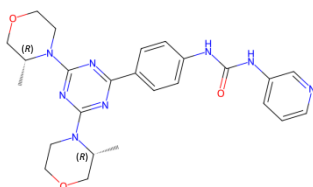
37D (9,6/7,3)



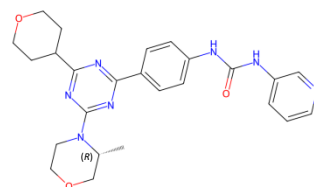
38D (9,8/7,4)



39D (8,8/6,2)



2E (9,7)



3E (9,2)

Tabela S1 - Estruturas químicas e dados de atividade dos Ligantes (pIC_{50}) do Grupo A para mTOR/PI3K α .
(continuação)

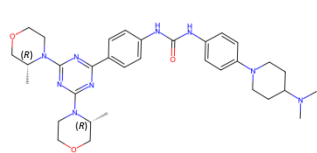
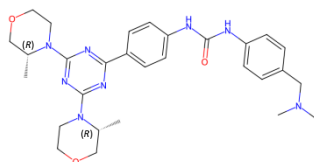
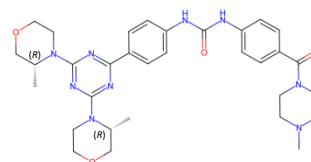
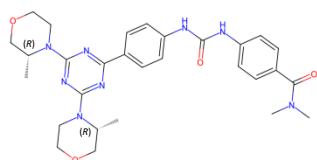
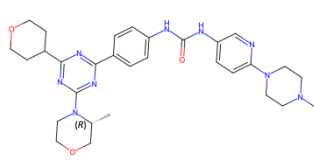
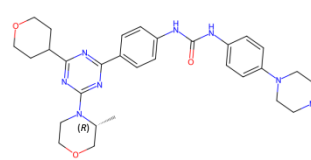
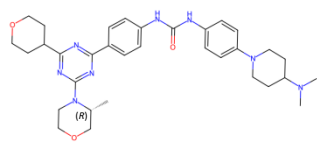
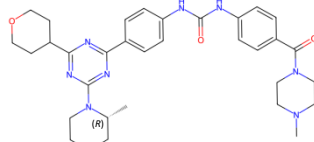
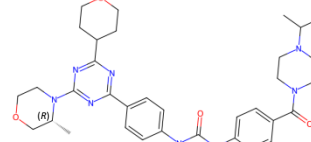
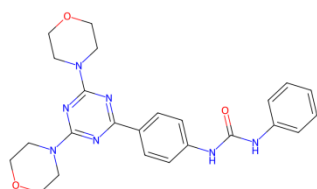
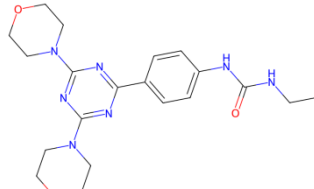
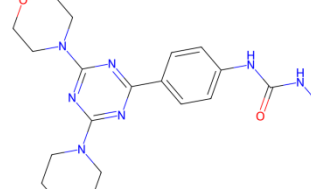
**7E (8,7)****8E (8,7)****10E (8,8)****12E (9,3)****13E (8,6)****15E (9,1)****16E (8,8)****17E (9,0)****18E (9,2)****8A (84)****9A (8,0)****10A (7,9)**

Tabela S1 - Estruturas químicas e dados de atividade dos Ligantes (pIC_{50}) do Grupo A para mTOR/PI3K α .
(continuação)

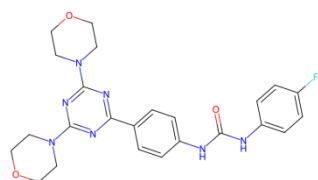
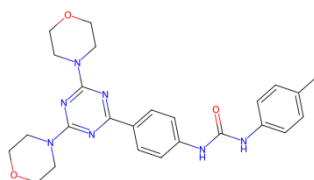
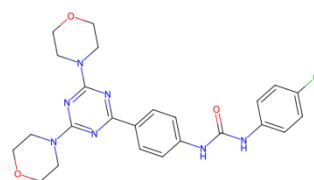
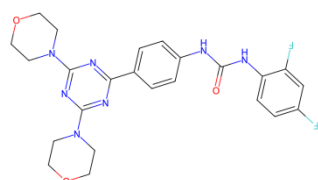
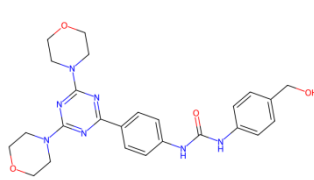
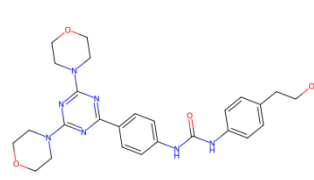
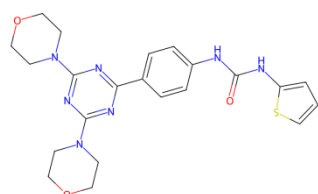
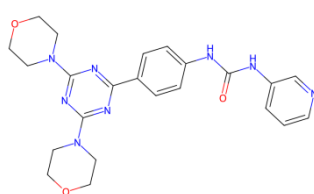
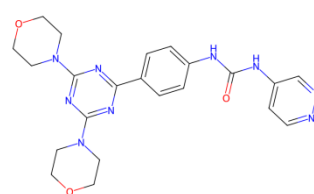
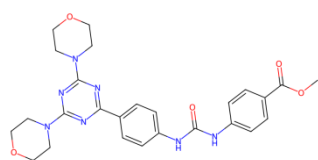
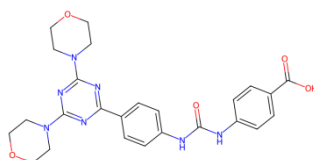
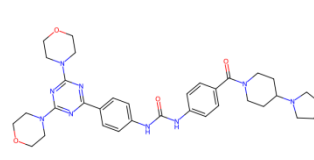
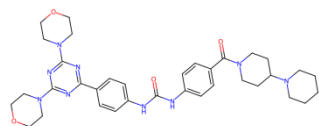
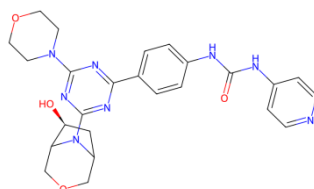
**11A (8,4)****12A (7,9)****13A (8,2)****14A (8,0)****15A (8,7)****16A (8,7)****17A (8,8)****18A (8,9)****20A (8,6)****21A (8,6)****22A (8,8)****27A (8,8)**

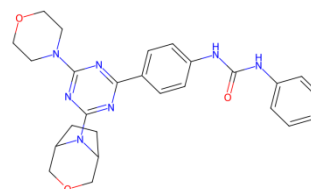
Tabela S1 - Estruturas químicas e dados de atividade dos Ligantes (pIC₅₀) do Grupo A para mTOR/PI3K α .
(conclusão)



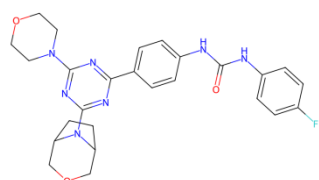
28A (9,1)



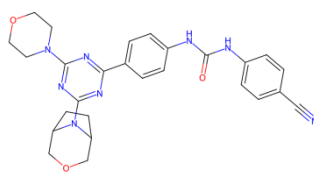
9C (8,8)



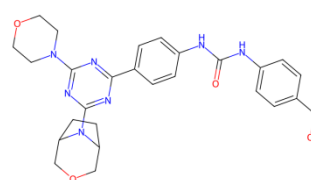
8aC (8,7)



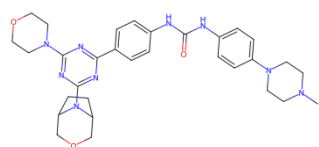
8bC (8,7)



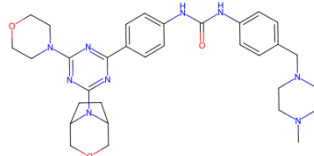
8dC (8,5)



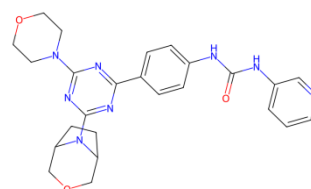
8fC (9,3)



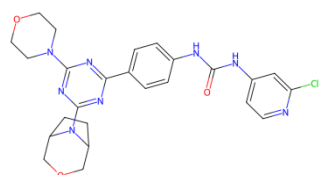
8iC (8,9)



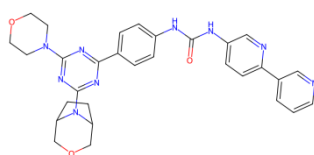
8kC (9,1)



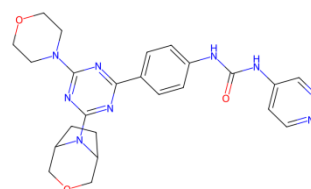
8lC (9,3)



8nC (8,9)



8oC (8,5)



8q (8,8)

* Os valores de pIC₅₀ são obtidos pela seguinte operação: pIC₅₀ = 9 - log¹⁰(IC₅₀ em nM).
Referências: Ligantes com terminação A (CHEMBL1157610); C (CHEMBL1255533); D (CHEMBL1156955); E (CHEMBL1156956).

Tabela S2 - Valores de energia (Moldock, intermolecular e ligação de hidrogênio) obtidos em kcal.mol⁻¹ para cada composto do grupo A com a enzima mTOR.

Comp.	Moldock	Energia intermolecular	Ligação de Hidrogênio
8A	-109,29	-149,12	-3,94
9A	-101,37	-131,07	-3,85
10A	-92,65	-122,33	-3,82
11A	-115,52	-153,00	-3,71
12A	-113,85	-151,14	-3,52
13A	-110,77	-148,13	-3,76
14A	-115,65	-155,21	-3,72
15A	-117,00	-155,44	-3,74
16A	-125,04	-162,44	-5,41
17A	-113,96	-144,77	-3,74
18A	-108,67	-148,97	-3,87
20A	-107,53	-148,95	-3,48
21A	-119,89	-160,47	-3,52
22A	-120,03	-159,22	-3,47
27A	-116,90	-168,23	-3,63
28A	-111,70	-161,71	-3,65
8aC	-102,88	-156,53	-2,69
8bC	-114,25	-160,00	-4,14
8dC	-117,75	-161,70	-4,34
8fC	-118,00	-161,32	-4,09
8iC	-120,44	-170,83	-3,55
8kC	-122,01	-176,74	-1,94
8LC	-108,67	-156,51	-4,63
8nC	-108,75	-155,06	-3,29
8oC	-88,66	-144,51	-2,04
8qC	-100,20	-155,71	-3,06
9C	-119,77	-164,66	-7,71
1D	-131,27	-190,48	-0,77
2D	-134,55	-188,63	-2,98
3D	-145,11	-201,53	-1,33
4D	-133,38	-187,18	-2,12
5D	-133,38	-187,18	-2,12
8D	-141,71	-186,19	-2,31
9D	-144,27	-191,59	-4,97
10D	-121,85	-170,67	-2,92
15D	-155,84	-201,20	-4,69
19D	-138,74	-187,58	-3,31
22D	-143,22	-190,06	-1,66
23D	-136,89	-181,94	-2,32
24D	-146,71	-201,72	-2,99
25D	-147,14	-199,56	-3,03
26D	-156,06	-199,26	-4,23
29D	-147,22	-199,94	-2,91
30D	-135,12	-180,70	-4,29
31D	-130,69	-187,29	-4,10
32D	-150,06	-195,63	-1,93

33D	-159,82	-206,29	-2,38
34D	-144,55	-198,13	-2,96
35D	-148,44	-206,03	-4,47
37D	-163,90	-215,80	-3,49
38D	-147,67	-191,18	-1,60
39D	-151,57	-203,19	-4,48
2E	-128,71	-175,33	-1,81
3E	-124,74	-169,09	-2,22
7E	-141,62	-188,13	-2,32
8E	-150,06	-192,27	-2,35
10E	-154,27	-201,89	-2,65
12E	-140,77	-182,75	-2,54
13E	-118,81	-171,13	-1,93
15E	-144,83	-189,63	-5,69
16E	-161,97	-206,02	-4,93
17E	-152,38	-203,13	-3,28
18E	-168,48	-219,96	-5,56

Tabela S3 - Energias intermoleculares obtidas entre a enzima mTOR e os compostos do grupo A. (continua)

Comp.	Energia Intermolecular kcal.mol ⁻¹							
	Lys 2187	His 2189	Glu 2190	Asp 2191	Leu 2192	Gln 2194	Asp 2195	Tyr 2225
8A	-3,64	0,00	-11,32	-3,00	-2,52	-2,48	-10,49	-3,98
9A	-3,72	0,00	-4,56	-1,06	-2,40	0,00	-9,13	-4,01
10A	-3,70	0,00	-3,88	0,00	-1,81	0,00	-8,13	-4,01
11A	-3,48	0,00	-12,98	-3,68	-2,66	-2,40	-10,40	-4,16
12A	-3,61	0,00	-12,85	-4,10	-2,89	-2,61	-9,91	-4,19
13A	-3,81	0,00	-11,70	-3,20	-2,67	-2,77	-10,41	-4,06
15A^T	-3,45	0	-14,32	-5,17	-2,75	-2,54	-10,00	-4,08
14A	-3,87	0,00	-12,31	-3,80	-4,64	-5,15	-6,45	-4,01
16A	-3,48	-0,33	-15,62	-9,08	-2,86	-3,22	-9,67	-4,08
17A	-3,61	0,00	-10,64	-2,42	-2,51	-1,43	-9,66	-4,10
18A	-3,68	0,00	-11,45	-2,77	-2,56	-1,93	-10,85	-4,01
20A^T	-3,94	0,00	-11,79	-2,31	-2,65	-1,59	-10,84	-4,07
21A	-3,41	0,00	-14,90	-4,39	-2,81	-3,02	-10,08	-4,25
22A	-3,33	0,00	-15,48	-5,59	-3,27	-2,47	-10,06	-4,32
27A	-3,52	-4,02	-20,06	-6,43	-3,25	-1,47	-10,26	-3,71
28A^T	-3,72	-1,35	-13,71	-3,33	-2,67	-3,47	-9,78	-4,16
8aC	-9,70	0,00	-11,92	-3,72	-3,24	-2,49	-7,15	-3,95
8bC	-9,06	0,00	-13,58	-5,21	-2,42	-2,91	-8,81	-4,13
8dC	-8,90	0,00	-13,94	-5,43	-2,28	-3,27	-9,93	-4,09
8fC	-9,14	0,00	-14,40	-5,58	-2,54	-3,12	-10,02	-4,82
8iC	-9,43	0,00	-12,27	-3,65	-2,51	-2,29	-8,98	-3,93
8kC	-9,20	0,00	-11,89	-4,17	-1,04	-5,69	-6,10	-3,93
8LC	-9,71	0,00	-12,03	-3,08	-2,48	-1,89	-7,02	-3,96
8nC	-9,48	0,00	-12,49	-3,54	-2,58	-1,77	-9,73	-4,98
8o^T	-9,20	0,00	-11,89	-4,17	-1,04	-5,69	-6,10	-3,93
8q^T	-9,67	0,00	-12,25	-3,13	-2,77	-1,82	-7,95	-4,07
9C	-9,48	0,00	-12,49	-3,54	-2,58	-1,77	-9,73	-4,98
1D	-6,25	-0,49	-17,41	-7,43	-3,27	-5,25	-13,65	-7,72
2D	-6,23	-0,61	-18,52	-7,34	-3,31	-3,89	-14,88	-6,15
3D	-6,18	0,00	-13,17	-5,11	-2,88	-8,07	-14,01	-7,92
4D	-6,54	0,00	-14,51	-5,25	-2,58	-5,25	-18,18	-7,19
5D^T	-6,48	0,00	-14,70	-5,32	-2,96	-5,11	-18,24	-7,52
8D^T	-5,79	-5,03	-27,19	-16,68	-2,36	-3,04	-20,96	-5,73
9D	-6,53	-0,68	-20,30	-12,25	-3,65	-4,05	-16,50	-5,86
10D	-6,30	0,00	-17,39	-5,88	-2,17	-2,07	-19,87	-4,61
15D	-7,67	0,00	-15,02	-4,97	-4,54	-6,53	-14,03	-8,69
19D	-6,38	0,00	-13,98	-4,91	-2,37	-5,42	-16,62	-4,94
22D	-6,32	-0,42	-15,95	-7,11	-3,98	-6,18	-13,34	-6,56
23D^T	-6,38	-0,34	-14,79	-5,26	-2,43	-5,22	-19,73	-4,86
24D	-6,42	0,00	-12,05	-4,91	-2,96	-9,31	-16,10	-4,36
25D	-6,18	-0,34	-15,38	-6,05	-4,09	-6,89	-14,85	-7,17
26D	-6,05	-2,88	-22,57	-10,18	-3,56	-3,72	-19,06	-6,44
29D	-6,51	0,00	-15,05	-6,46	-3,70	-6,53	-17,83	-5,99
30D	-6,23	-1,20	-19,44	-8,05	-2,69	-3,45	-18,22	-4,29
31D	-6,25	-0,47	-16,49	-6,25	-2,43	-4,68	-17,35	-4,84

32D	-6,45	0,00	-14,15	-5,37	-3,14	-6,20	-12,48	-6,49
33D^T	-6,05	0,00	-13,11	-5,08	-3,18	-6,97	-13,22	-6,55
34D^T	-6,55	0,00	-12,49	-4,19	-2,35	-8,27	-15,60	-4,85
35D	-6,09	0,00	-15,40	-5,32	-2,11	-8,68	-18,22	-4,92
37D^T	-6,46	-0,32	-15,96	-5,89	-3,54	-7,46	-17,22	-5,25
38D^T	-8,24	-0,43	-16,08	-8,50	-3,40	-4,51	-5,03	-5,99
39D	-6,35	0,00	-14,62	-5,27	-2,54	-7,16	-17,85	-4,85
2E	-7,38	0,00	-19,01	-3,62	-6,58	-2,00	-15,92	-4,78
3E	-6,88	-0,30	-18,95	-3,20	-6,04	-1,89	-17,00	-4,38
7E	-6,92	-0,83	-23,00	-7,15	-4,52	-1,43	-14,94	-4,63
8E	-6,97	-1,12	-24,55	-6,04	-6,38	-3,27	-16,19	-4,84
10E^T	-6,86	-0,35	-21,24	-5,93	-7,96	-8,21	-15,00	-3,57
12E^T	-7,32	-1,03	-25,07	-9,16	-6,77	-3,48	-15,10	-3,86
13E	-7,03	-0,46	-21,74	-8,70	-5,45	-6,00	-13,09	-3,24
15E	-6,78	-0,80	-22,52	-8,15	-6,70	-4,85	-13,44	-4,36
16E	-6,83	-1,49	-24,38	-7,87	-8,90	-5,08	-14,57	-5,60
17E	-7,44	0,00	-20,92	-6,14	-6,82	-9,10	-15,27	-3,32
18E	-6,72	0,00	-20,04	-7,49	-5,69	-6,88	-15,46	-5,10

^TGrupo de teste

Tabela S3 - Energias intermoleculares obtidas entre a enzima mTOR e os compostos do grupo A. (continuação)

Comp.	Energia Intermolecular kcal.mol ⁻¹							
	Ile 2237	Trp 2239	Val 2240	Cys 2243	Thr 2245	Ser 2342	Met 2345	Ile 2356
8A	-4,92	-24,51	-1,30	-3,59	-3,45	-3,90	-9,05	-18,24
9A	-5,08	-24,33	-1,63	-3,54	-3,16	-4,35	-8,93	-18,43
10A	-5,15	-25,86	-1,35	-3,73	-3,31	-3,62	-5,79	-18,47
11A	-5,15	-24,51	-1,24	-3,65	-3,41	-3,76	-9,02	-18,70
12A	-5,40	-26,11	-0,41	-3,85	-3,19	-3,33	-5,93	-18,66
13A	-5,25	-23,93	-1,59	-3,55	-3,22	-2,80	-6,66	-18,33
14A	-5,22	-24,53	-1,37	-3,65	-3,39	-3,80	-8,93	-18,18
15A^T	-4,98	-26,13	-1,06	-3,87	-3,30	-3,85	-6,81	-18,16
16A	-5,00	-26,22	-1,03	-3,89	-3,26	-3,71	-6,60	-18,34
17A	-5,16	-24,60	-1,27	-3,66	-3,27	-3,69	-9,02	-18,57
18A	-5,03	-24,67	-1,27	-3,63	-3,34	-3,28	-9,01	-18,43
20A^T	-5,38	-24,45	-1,38	-3,56	-3,37	-4,07	-8,94	-18,32
21A	-5,26	-26,12	-0,97	-3,91	-3,28	-4,05	-6,82	-18,42
22A	-5,27	-24,56	-1,22	-3,67	-3,09	-3,98	-8,97	-18,77
27A	-5,23	-24,30	-0,79	-3,87	-2,90	-4,14	-9,17	-17,61
28A^T	-5,39	-24,20	-1,44	-3,65	-3,22	-4,54	-9,00	-18,66
8aC	-5,35	-28,39	-1,64	-3,50	-5,77	-4,67	-10,59	-18,38
8bC	-5,09	-24,53	-7,55	-2,49	-4,34	-2,82	-7,82	-19,77
8dC	-4,85	-23,73	-5,89	-2,46	-4,15	-3,62	-7,88	-19,63
8fC	-5,75	-17,57	-9,05	-3,33	-4,91	-2,92	-6,92	-20,62
8iC	-5,07	-26,64	-4,56	-2,83	-4,91	-3,76	-9,18	-18,94
8kC	-4,53	-26,61	0,77	-3,20	-5,40	-3,78	-9,38	-18,52
8LC	-5,50	-27,83	-0,90	-3,32	-5,39	-5,06	-9,96	-17,89
8nC	-6,00	-20,52	-8,09	-3,87	-6,13	-6,77	-9,22	-20,62
8oC^T	-4,53	-26,61	0,77	-3,20	-5,40	-3,78	-9,38	-18,52
8qC^T	-5,44	-28,56	-1,39	-3,59	-5,25	-4,40	-10,42	-18,29
9C	-6,00	-20,52	-8,09	-3,87	-6,13	-6,77	-9,22	-20,62
1D	-6,47	-27,13	-8,18	-2,39	-5,33	-3,19	-8,53	-20,25
2D	-5,83	-25,66	-11,19	-4,22	-4,90	-2,79	-7,61	-19,82
3D	-6,75	-26,85	-7,71	-3,08	-4,71	-3,87	-7,98	-19,85
4D	-6,79	-26,53	-6,74	-3,93	-5,00	-3,49	-6,70	-19,64
5D^T	-7,01	-26,41	-6,04	-3,66	-5,29	-3,86	-8,37	-19,83
8D^T	-5,65	-26,83	-10,17	-3,44	-4,76	-3,37	-7,84	-20,75
9D	-6,25	-25,22	-5,60	-4,74	-4,93	-3,71	-8,22	-19,03
10D	-5,89	-25,12	0,61	-5,51	-4,34	-3,46	-4,95	-20,17
15D	-7,12	-28,78	-3,41	-4,82	-5,89	-3,55	-10,58	-17,38
19D	-6,34	-29,91	-2,25	-4,06	-5,27	-4,23	-10,44	-18,21
22D	-6,59	-25,00	-11,21	-3,87	-3,92	-2,49	-7,01	-20,25
23D^T	-5,82	-26,35	-6,12	-5,36	-3,49	-2,63	-2,71	-19,55
24D	-5,43	-26,89	-2,45	-4,12	-5,35	-3,62	-9,96	-17,87
25D	-6,65	-26,07	-12,37	-4,20	-3,89	-2,71	-7,42	-19,69
26D	-6,27	-24,89	-11,64	-4,04	-3,82	-2,37	-6,98	-19,84
29D	-6,31	-24,81	-7,85	-4,18	-3,77	-2,86	-8,55	-20,14
30D	-4,86	-25,98	-2,68	-3,89	-4,22	-3,40	-9,87	-19,13
31D	-5,90	-30,82	-1,75	-4,13	-5,88	-4,05	-10,95	-18,31

32D	-6,70	-25,04	-11,59	-4,13	-3,09	-2,94	-7,76	-18,69
33D^T	-6,91	-24,58	-11,76	-4,18	-4,45	-3,01	-8,13	-18,67
34D^T	-6,71	-30,45	-1,92	-3,56	-5,47	-5,03	-10,33	-17,51
35D	-5,87	-29,66	-2,70	-3,44	-4,98	-3,77	-9,43	-18,75
37D^T	-6,50	-30,45	-2,72	-3,67	-5,27	-5,04	-10,39	-18,77
38D^T	-5,66	-28,59	-4,00	-4,25	-4,73	-4,87	-10,90	-19,02
39D	-6,09	-30,47	-2,35	-3,56	-5,22	-4,11	-10,61	-18,85
2E	-7,37	-27,83	-3,14	-3,28	-5,17	-5,52	-10,51	-18,32
3E	-5,99	-21,04	-5,25	-3,21	-4,86	-7,57	-9,20	-19,50
7E	-6,95	-26,28	-2,32	-3,78	-8,03	-7,52	-9,60	-18,68
8E	-7,06	-26,01	-3,67	-3,61	-7,88	-8,24	-9,35	-18,95
10E^T	-7,42	-25,74	-1,89	-3,64	-8,07	-8,98	-10,48	-17,29
12E^T	-6,18	-25,87	-0,75	-5,86	-8,35	-8,86	-4,29	-17,54
13E	-6,21	-27,61	-1,44	-4,47	-6,80	-2,73	-10,56	-15,88
15E	-6,15	-26,39	0,00	-6,61	-9,48	-9,15	-5,27	-17,07
16E	-7,99	-28,57	-2,25	-4,53	-8,58	-8,60	-9,27	-18,31
17E	-6,16	-26,78	-1,18	-3,78	-8,20	-9,52	-11,07	-16,04
18E	-7,32	-27,22	-3,03	-3,71	-8,84	-8,83	-9,05	-18,16

^TGrupo de teste

Tabela S3 - Energias intermoleculares obtidas entre a enzima mTOR e os compostos do grupo A. (conclusão)

Comp.	Energia Intermolecular kcal.mol ⁻¹							IC ₅₀ (nM)	pIC ₅₀ Exp.	pIC ₅₀ [*] Pred.
	Asp 2357	Phe 2358	Gly 2359	Asp 2360	Trp 2429	Arg 2430	Asp 2433			
8A	-21,54	-4,09	-5,14	0,00	0,00	0,00	0,00	3,90	8,41	8,32
9A	-18,34	-2,82	-2,06	0,00	0,00	0,00	0,00	10,00	8,00	8,17
10A	-17,69	-1,92	-1,29	0,00	0,00	0,00	0,00	11,30	7,95	8,08
11A	-21,46	-3,84	-5,28	0,00	-0,85	0,00	0,00	3,90	8,41	8,57
12A	-21,03	-3,84	-5,33	0,00	-0,90	0,00	0,00	6,30	8,20	8,56
13A	-21,41	-3,96	-5,53	0,00	-0,81	0,00	0,00	6,70	8,17	8,24
14A	-22,02	-4,95	-6,39	0,00	-0,72	0,00	0,00	9,30	8,03	8,28
15A^T	-21,29	-3,92	-4,94	0,00	-2,03	0,00	0,00	1,90	8,72	8,55
16A	-21,21	-3,91	-4,82	0,00	-3,09	0,00	0,00	1,80	8,74	8,60
17A	-21,01	-3,63	-4,07	0,00	0,00	0,00	0,00	1,70	8,77	8,52
18A	-21,58	-4,02	-4,84	0,00	0,00	0,00	0,00	1,20	8,92	8,47
20A^T	-21,23	-4,00	-4,84	0,00	0,00	0,00	0,00	2,30	8,64	8,46
21A	-21,68	-3,85	-7,40	-1,10	-2,18	0,00	0,00	2,50	8,60	8,70
22A	-21,09	-3,72	-5,58	0,00	-2,58	0,00	0,00	1,50	8,82	8,81
27A	-20,77	-3,05	-5,58	-4,96	-5,64	-3,40	-7,18	1,60	8,80	8,74
28A^T	-21,69	-4,15	-6,31	-5,40	-5,18	-7,77	-9,34	0,80	9,10	9,02
8aC	-15,04	-3,85	-4,90	0,00	-0,32	0,00	0,00	2,00	8,70	8,90
8bC	-17,20	-3,54	-4,59	0,00	-1,21	0,00	0,00	1,90	8,72	8,76
8dC	-18,01	-3,69	-4,67	0,00	-2,41	0,00	0,00	3,30	8,48	8,76
8fC	-16,51	-3,59	-4,75	0,00	-2,73	0,00	0,00	0,43	9,37	9,06
8iC	-15,72	-3,69	-4,30	0,00	-0,36	0,00	0,00	1,10	8,96	8,79
8kC	-13,25	-4,35	-7,22	0,00	5,44	0,00	0,00	0,80	9,10	8,76
8lC	-15,50	-3,85	-4,24	0,00	0,00	0,00	0,00	0,50	9,30	8,85
8nC	-15,80	-3,11	-4,15	0,00	-0,34	0,00	0,00	1,26	8,90	9,20
8o^T	-13,25	-4,35	-7,22	0,00	5,44	0,00	0,00	3,45	8,46	8,76
8q^T	-15,72	-3,74	-3,97	0,00	0,00	0,00	0,00	1,55	8,81	8,57
9C	-15,80	-3,11	-4,15	0,00	-0,34	0,00	0,00	1,55	8,81	9,16
1D	-19,79	-4,06	-6,72	-1,56	-3,60	0,00	-0,83	0,80	9,10	9,20
2D	-21,03	-3,87	-5,72	-1,18	-5,92	0,00	0,00	0,57	9,24	9,21
3D	-18,69	-4,86	-11,13	-4,57	-5,98	-2,86	-3,12	1,00	9,00	8,91
4D	-17,77	-4,31	-8,74	-2,21	-4,28	0,00	0,00	1,10	8,96	9,10
5D^T	-17,88	-3,92	-7,17	-1,31	-4,12	0,00	-0,36	0,89	9,05	9,04
8D^T	-19,64	-3,43	-4,52	-0,88	-6,36	0,00	0,00	0,80	9,10	8,79
9D	-19,35	-3,91	-5,37	-0,83	-3,23	0,00	0,00	0,26	9,59	9,62
10D	-20,56	-3,60	-5,01	-1,07	-2,37	0,00	0,00	0,18	9,74	10,32
15D	-14,80	-4,67	-9,45	-2,49	-7,95	0,00	-1,08	0,70	9,15	9,34
19D	-18,34	-4,89	-9,14	-2,59	-4,95	0,00	-1,19	1,20	8,92	9,01
22D	-20,15	-4,58	-7,65	-1,79	-7,32	0,00	0,00	0,54	9,27	9,18
23D^T	-18,91	-4,11	-7,11	-1,80	-6,39	0,00	-3,01	0,56	9,25	9,56
24D	-16,26	-5,14	-14,98	-7,08	-6,89	-5,29	-2,63	0,88	9,06	9,14
25D	-19,57	-4,24	-10,97	-2,40	-6,86	0,00	-0,37	0,56	9,25	9,08
26D	-18,35	-3,37	-5,27	-0,76	-7,68	0,00	0,00	0,81	9,09	9,12
29D	-19,83	-4,33	-9,18	-2,63	-7,35	-1,99	-2,10	0,14	9,85	9,61
30D	-20,88	-3,89	-5,00	-0,80	-3,94	0,00	0,00	0,70	9,15	9,37

31D	-19,27	-4,24	-7,00	-1,69	-4,73	0,00	0,00	0,40	9,40	9,05
32D	-21,59	-4,48	-10,47	-2,59	-7,56	-0,38	-2,39	1,20	8,92	9,00
33D^T	-23,08	-5,02	-11,98	-3,29	-9,62	-2,65	-4,27	1,25	8,90	8,49
34D^T	-15,89	-5,69	-10,91	-3,96	-5,52	-4,79	-3,64	0,90	9,05	8,66
35D	-20,61	-4,87	-9,06	-5,45	-7,57	-4,20	-2,63	0,57	9,24	9,39
37D^T	-17,92	-4,95	-10,33	-6,40	-7,06	-6,82	-4,30	0,25	9,60	9,66
38D^T	-18,37	-2,31	-4,22	-1,57	-5,35	-0,30	-4,93	0,20	10,00	9,69
39D	-18,89	-4,61	-8,74	-1,56	-11,0	-4,00	-2,90	1,70	8,77	8,82
2E	-17,93	-1,85	-2,70	-0,80	-0,33	0,00	0,00	0,20	9,70	9,36
3E	-20,30	-2,02	-2,13	-0,91	-0,42	0,00	0,00	0,60	9,22	9,26
7E	-17,97	-1,71	-4,17	-1,18	-4,24	0,00	-2,39	1,90	8,72	8,76
8E	-18,31	-1,90	-2,66	-0,87	-4,91	0,00	0,00	2,00	8,70	8,88
10E^T	-18,37	-2,02	-5,29	-5,22	-5,62	-0,80	-0,55	1,70	8,77	8,93
12E^T	-17,71	-1,28	-3,40	-0,72	-0,52	0,00	0,00	0,50	9,30	9,20
13E	-17,12	-2,06	-5,91	-1,37	5,40	0,00	0,00	2,30	8,64	8,90
15E	-19,09	-2,05	-4,35	-0,94	-6,79	0,00	0,00	0,80	9,10	8,89
16E	-18,89	-1,85	-3,61	-0,81	-8,39	0,00	0,00	1,70	8,77	8,75
17E	-16,09	-1,90	-7,85	-5,84	-4,90	-2,94	-0,48	1,00	9,00	8,94
18E	-19,70	-2,06	-9,99	-7,94	-6,30	-5,71	-2,06	0,70	9,15	9,13

*valores estimados pela equação 5.1

^TGrupo de teste

Tabela S4 - Valores de energia (Moldock, intermolecular e ligação de hidrogênio) obtidos em kcal.mol⁻¹ para cada composto do grupo A com a enzima PI3K α .

Comp.	Moldock	Energia intermolecular	Ligação de Hidrogênio
1D	-89,45	-142,53	-2,82
2D	-73,60	-119,37	0,21
3D	-76,70	-134,44	-4,44
4D	-75,78	-117,93	-0,46
5D	-81,62	-131,36	-3,96
6D	-75,72	-129,02	1,33
7D	-67,37	-127,85	-2,75
8D	-94,43	-149,13	-0,97
9D	-79,90	-130,26	-2,89
10D	-75,69	-131,57	-5,20
15D	-106,46	-141,29	-0,78
16D	-89,62	-131,87	0,22
17D	-92,26	47,85	0,00
18D	-84,58	-127,74	2,40
19D	-88,45	-138,74	-3,93
20D	-96,75	-150,03	-2,46
21D	-91,29	-137,29	-1,74
22D	-85,81	-133,16	-1,32
23D	-86,75	-138,41	-0,87
24D	-77,77	-123,00	-0,56
25D	-84,78	-137,33	-3,04
26D	-84,16	-129,85	-0,24
27D	-75,73	-135,49	0,10
28D	-85,56	-133,28	-1,04
29D	-87,17	-134,77	0,63
30D	-83,84	-131,68	-5,01
31D	-93,94	-139,97	-3,89
32D	-89,00	-135,53	-2,35
33D	-87,60	-135,07	-0,54
34D	-91,72	-137,35	-0,52
35D	-78,55	-135,42	-1,55
36D	-77,54	-137,92	0,68
37D	-76,22	-125,18	-0,62
38D	-98,37	-154,17	-2,98
39D	-85,55	-127,35	-1,79

Tabela S5 - Energias intermoleculares obtidas entre a enzima PI3K α e os compostos do grupo A. (continua)

Comp.	Energia Intermolecular kcal.mol ⁻¹							
	Met772	Ser773	Set774	Lys776	Trp780	Lys802	Gly804	Asp805
1D	-5,94	-0,35	-2,05	0,51	-6,20	2,40	-0,31	-16,26
2D	-5,05	-0,31	0,00	0,47	-3,28	4,14	-0,58	-19,11
3D	-5,17	-0,45	-0,98	-0,39	-7,33	4,03	-2,36	-26,16
4D	-2,94	-0,39	-0,97	0,47	-2,59	4,60	-0,72	-19,44
5D	-3,71	0,00	-0,98	0,50	-6,55	4,20	0,00	-13,78
6D	-5,55	-0,35	-2,05	-0,45	-1,76	7,57	-2,76	-23,69
7D	-2,58	-1,30	0,00	-7,37	-4,94	4,30	-3,26	-25,94
8D	-6,23	-0,39	-3,09	0,00	-8,81	3,89	-1,86	-21,11
9D	-4,88	-0,35	-2,59	0,33	-6,06	4,95	-0,54	-21,80
10D	-6,10	-0,39	-3,17	0,46	-8,66	3,45	0,00	-15,17
15D	-4,12	-0,53	-1,00	0,51	-9,19	4,77	-0,46	-17,97
16D	-4,24	0,00	-3,05	0,52	-4,88	4,86	-0,34	-16,76
17D	-3,12	0,00	-2,52	0,52	-7,67	2,80	-0,59	-16,82
18D	-6,34	-0,36	-1,78	0,51	-6,06	4,74	-0,46	-17,62
19D	-5,56	-1,67	-3,87	0,52	-6,26	5,08	-0,37	-17,26
20D	0,65	-2,48	-8,53	0,52	-7,40	4,16	-0,39	-17,74
21D	-2,76	-0,31	-2,72	0,53	-7,10	5,80	-0,44	-17,72
22D	-2,82	-0,32	-2,76	0,53	-6,72	5,69	-0,40	-17,75
23D	-2,08	-0,37	-3,18	0,52	-6,94	5,47	-0,37	-17,13
24D	-3,78	0,00	-1,09	0,48	-6,98	4,58	-0,70	-19,16
25D	-3,00	-0,38	-4,01	0,00	-6,34	7,45	-2,34	-22,90
26D	-3,66	-2,42	-6,78	-0,75	-5,18	5,74	-2,73	-23,86
27D	-1,35	0,00	-1,97	-1,46	-7,43	4,34	-0,73	-20,63
28D	-3,66	-2,39	-6,70	-0,45	-5,20	4,85	-3,42	-25,45
29D	-4,07	0,00	-2,86	0,00	-4,07	2,92	-2,42	-24,83
30D	-4,95	-0,79	-4,66	0,53	-6,39	3,24	-0,40	-18,93
31D	-2,97	-0,39	-3,84	0,53	-5,41	4,52	-0,48	-18,11
32D	-4,69	-3,09	-5,03	0,52	-8,61	4,35	-0,46	-17,51
33D	-4,81	-1,72	-4,59	0,36	-5,68	3,47	-0,73	-20,63
34D	-2,85	-0,32	-1,42	-0,45	-6,15	5,40	-1,33	-22,99
35D	-3,20	-0,37	-4,14	-0,35	-7,19	2,71	-2,42	-24,09
36D	-4,85	-1,73	-1,57	-1,30	-2,02	4,95	-3,39	-24,20
37D	-3,67	-2,46	-1,78	-1,72	-2,03	3,59	-3,32	-20,43
38D	-1,97	-0,82	-3,64	0,00	-7,18	3,74	-1,86	-20,78
39D	-3,99	-0,35	0,00	0,00	-6,13	3,78	-2,32	-23,90

Tabela S5 - Energias intermoleculares obtidas entre a enzima PI3K α e os compostos do grupo A. (continuação)

Comp.	Energia Intermolecular kcal.mol ⁻¹							
	Asp806	Gln809	Asp810	Val850	Val851	Ser854	Met922	Phe930
1D	-6,78	-12,95	7,13	-8,09	-9,03	-5,12	0,00	-1,99
2D	-1,05	-8,01	7,29	-7,17	-8,47	-4,04	-3,17	-1,47
3D	-10,53	-6,55	-1,82	-8,90	-6,93	-4,81	-0,92	-2,06
4D	-7,70	-6,31	2,21	-3,59	-7,59	-3,94	-4,93	-1,70
5D	-8,28	-7,42	4,30	-11,01	-9,91	-3,59	-5,71	-2,06
6D	-12,60	-3,91	-2,15	-10,35	-5,13	-3,24	-5,23	-1,68
7D	-3,41	-4,48	2,71	-6,57	-6,46	-2,22	-3,07	-1,54
8D	-10,50	-6,70	0,87	-8,45	-12,51	-3,37	-5,76	-1,42
9D	-5,45	-5,07	0,00	-8,27	-8,32	-3,42	-6,38	-2,56
10D	-5,94	-4,02	1,50	-8,54	-12,62	-3,36	-5,80	-1,43
15D	-11,54	-9,32	0,00	-5,38	-3,67	-4,31	-4,68	-1,22
16D	-7,94	-11,86	4,29	-7,75	-10,70	-7,11	1,30	-1,68
17D	-10,63	-9,04	4,71	-6,53	-7,92	-1,95	-5,47	-1,12
18D	-13,04	-10,61	1,11	-8,44	5,16	2,51	-7,25	-1,77
19D	-10,57	-10,40	5,22	-9,83	-1,90	-5,97	-7,55	-1,27
20D	-8,47	-10,61	0,30	-10,75	-14,06	-1,51	-3,89	-1,98
21D	-12,65	-10,69	-0,41	-8,22	-10,00	-5,16	0,00	-2,12
22D	-8,07	-10,22	0,98	-8,39	-9,96	-5,22	0,00	-2,05
23D	-7,24	-11,91	3,19	-8,14	-9,60	-5,23	0,36	-2,06
24D	-2,94	-6,50	0,00	-10,04	7,65	-7,00	-7,58	-1,33
25D	-11,08	-6,00	-4,27	-10,26	-1,89	-5,79	-7,52	-1,53
26D	-6,16	-6,80	1,23	-7,66	-8,46	-4,28	-2,77	-1,61
27D	-3,96	-6,07	2,91	-11,26	-4,71	-3,64	-6,50	-1,53
28D	-6,88	-7,72	2,76	-7,60	-8,24	-4,30	-2,81	-1,60
29D	-12,43	-6,59	1,41	-8,34	-7,28	-2,62	-1,90	-1,51
30D	-9,09	-10,19	-0,72	-9,95	6,71	-7,10	-7,28	-1,09
31D	-10,17	-9,17	0,00	-11,07	-2,97	-4,22	-8,50	-2,24
32D	-10,86	-9,87	4,93	-7,37	5,26	-7,75	-7,11	-0,32
33D	-3,46	-5,46	-0,33	-6,34	-5,55	-4,62	-7,63	-1,49
34D	-6,99	-5,41	-0,42	-10,69	-4,37	-3,86	-8,46	-2,33
35D	-6,23	-6,24	0,95	-10,19	1,55	-5,54	-8,12	-1,71
36D	-10,89	-7,97	1,38	-7,51	-5,37	-4,69	-3,14	-1,30
37D	-7,95	-7,25	4,96	-8,53	-7,38	-2,78	-2,50	-1,38
38D	-14,52	-8,35	6,42	-11,66	-12,80	-2,19	-4,72	-1,92
39D	-6,32	-4,94	0,83	-9,70	-2,88	-5,15	-7,32	-1,69

Tabela S5 - Energias intermoleculares obtidas entre a enzima PI3K α e os compostos do grupo A. (conclusão)

Comp.	Energia Intermolecular kcal.mol ⁻¹					
	Gly935	His936	Glu1012	IC ₅₀ (nM) Exp.	pIC ₅₀ Exp.	pIC ₅₀ * Pred.
1D^T	-11,32	-6,53	-3,89	891,25	6,05	5,88
2D	-10,69	-3,21	-1,47	954,99	6,02	6,13
3D	-9,63	-1,58	-0,93	1122,02	5,95	6,41
4D	-9,42	-1,59	-0,92	501,19	6,30	6,06
5D	-10,07	-1,99	-1,25	223,87	6,65	6,80
6D	-9,06	-1,28	-0,70	954,99	6,02	6,37
7D	-9,35	-1,07	-0,63	478,63	6,32	6,42
8D	-9,93	-2,13	-1,13	389,05	6,41	6,26
9D	-8,78	-0,30	-0,83	954,99	6,02	6,15
10D^T	-8,29	-0,35	-0,86	251,19	6,60	6,30
15D^T	-11,81	-5,28	-3,55	1023,29	5,99	5,65
16D	-12,00	-6,26	-3,43	2511,89	5,60	5,94
17D	-11,34	-5,96	-1,98	4786,30	5,32	6,20
18D	-11,73	-5,57	-3,41	588,84	6,23	6,17
19D	-10,95	-6,83	-3,10	660,69	6,18	5,86
20D	-11,93	-6,32	-2,87	51,29	7,29	7,33
21D	-11,80	-5,55	-3,63	776,25	6,11	6,06
22D	-11,48	-5,32	-2,58	295,12	6,53	6,28
23D^T	-11,92	-5,00	-3,87	575,44	6,24	6,25
24D	-10,36	-7,18	-1,36	660,69	6,18	6,04
25D	-9,13	-1,93	-0,93	380,19	6,42	6,40
26D^T	-10,93	-4,04	-0,78	79,43	7,10	7,11
27D^T	-10,67	-4,73	-0,82	147,91	6,83	6,50
28D	-11,21	-4,88	-0,88	77,62	7,11	7,16
29D	-10,06	-1,66	-0,83	53,70	7,27	6,77
30D	-10,35	-3,08	-3,42	870,96	6,06	6,27
31D	-11,39	-5,37	-2,08	288,40	6,54	6,60
32D	-10,98	-6,87	-2,79	1000,00	6,00	6,19
33D	-10,42	-6,69	-0,96	977,24	6,01	6,09
34D^T	-10,09	-3,09	-0,81	446,68	6,35	6,39
35D	-11,12	-4,11	-0,82	60,26	7,22	7,03
36D	-9,41	-2,43	-0,87	102,33	6,99	6,61
37D	-9,64	-3,43	-0,82	52,48	7,28	7,33
38D	-10,98	-2,79	-1,01	42,66	7,37	7,29

39D	-8,53	-0,31	-0,64	616,60	6,21	6,45
------------	-------	-------	-------	--------	------	------

^T Grupo teste

*valores previstos pela equação 5.2

Tabela S6 - Estruturas químicas e dados de atividade (pIC₅₀) dos Ligantes do Grupo B para mTOR/PI3K α .
(continua)

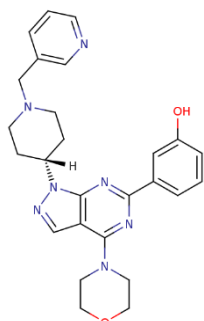
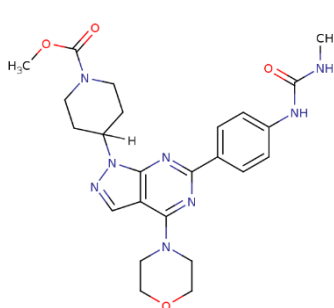
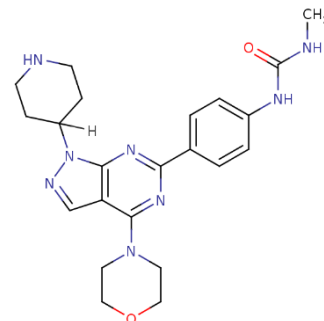
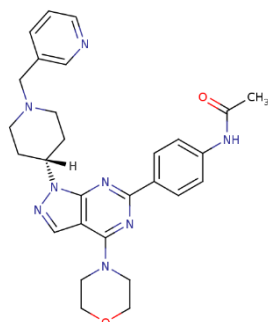
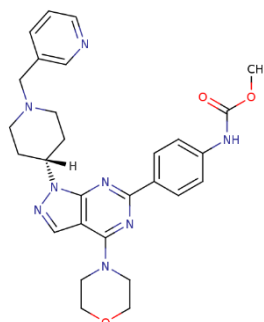
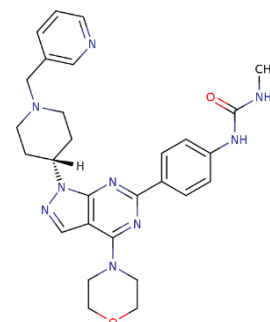
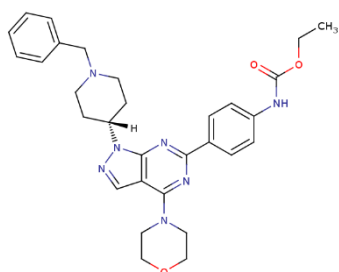
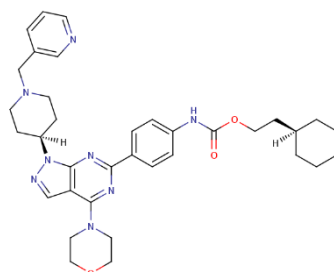
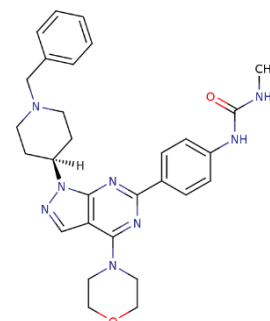
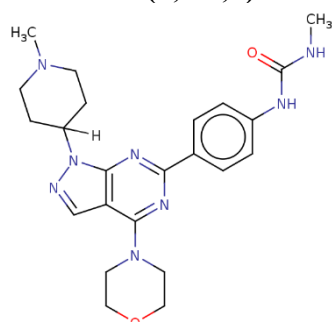
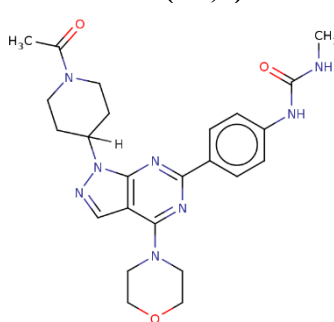
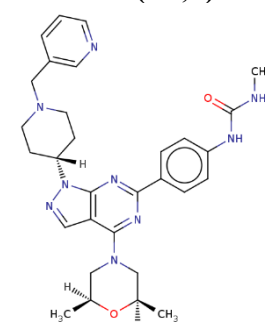
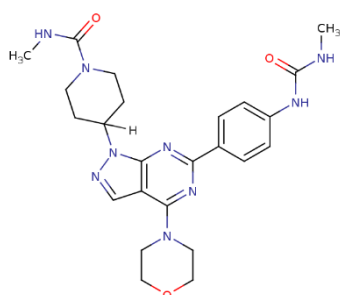
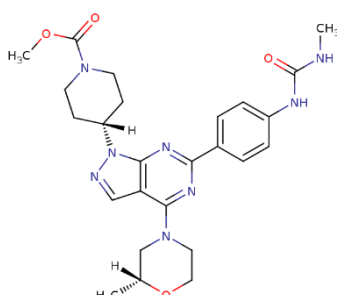
**1A (8,0/7,3)****2AB (9,3/7,0)****6A (8,9/7,6)****7A (-/6,4)****9A (-/6,1)****10A (-/7,4)****11A (7,3/6,2)****12A (-/6,5)****13A (-/7,9)****14A (7,7/6,7)****15A (8,7/6,6)****51B (7,1/5,4)**

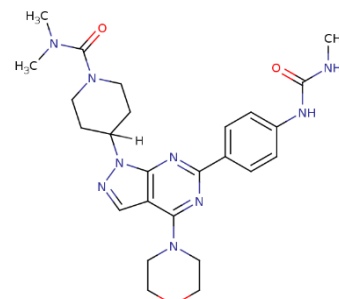
Tabela S6 - Estruturas químicas e dados de atividade dos Ligantes (pIC_{50}) do Grupo B para mTOR/PI3K α .
(continuação)



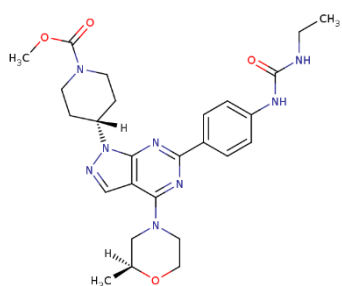
16A (8,7/6,8)



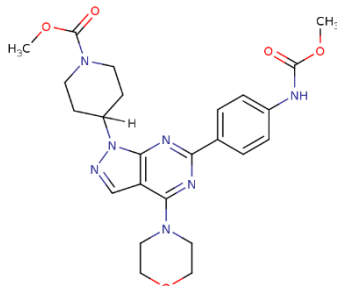
52B (8,6/6,6)



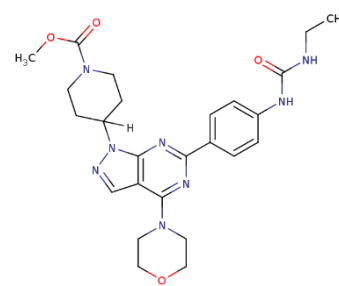
17A (9,0/-)



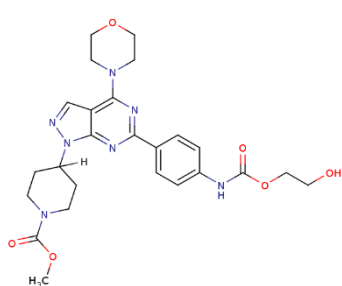
53B (8,7/6,1)



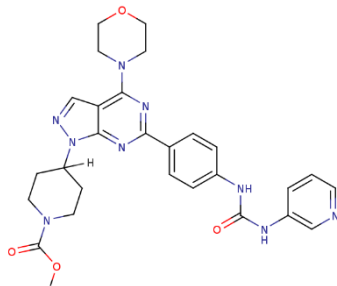
19A (8,4/6,0)



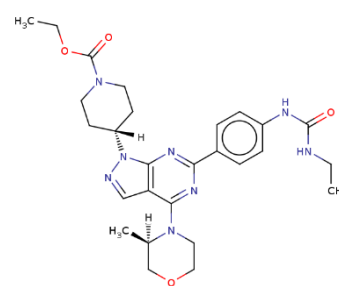
54B (9,5/6,3)



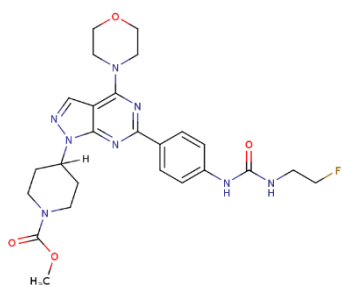
20A (9,0/6,2)



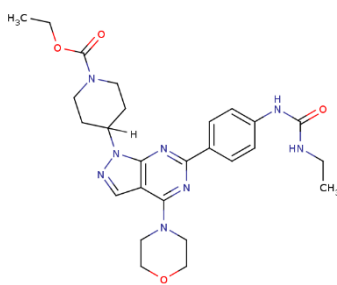
55B (9,7/-)



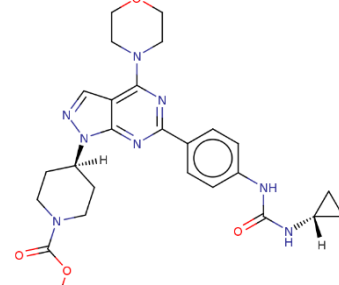
21B (9,1/-)



22A (9,2/6,3)

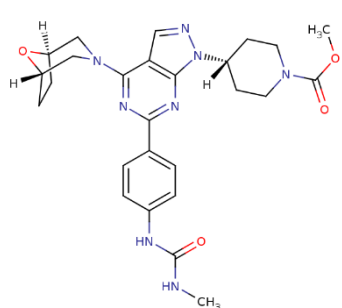


56B (9,8/6,2)

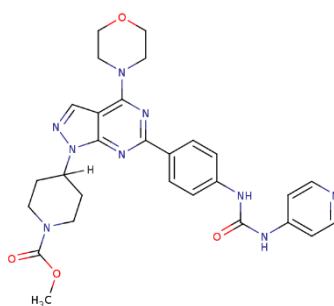


23A (9,3/6,2)

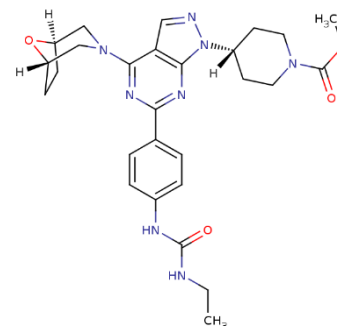
Tabela S6 - Estruturas químicas e dados de atividade dos Ligantes (pIC₅₀) do Grupo B para mTOR/PI3K α .
(continuação)



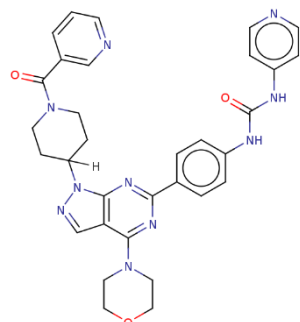
24B (9,7/5,7)



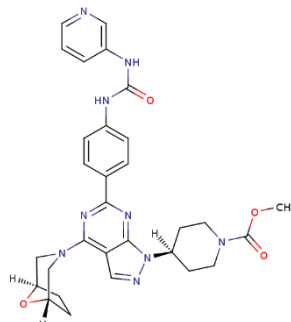
25B (9,5/7,7)



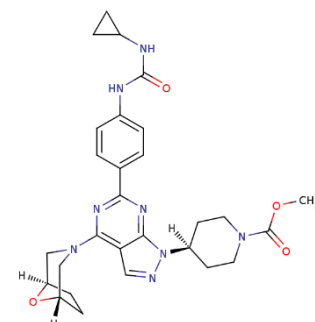
58B (9,7/-)



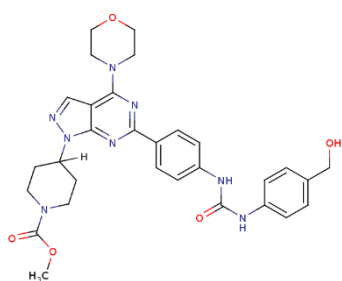
26A (10,1/8,2)



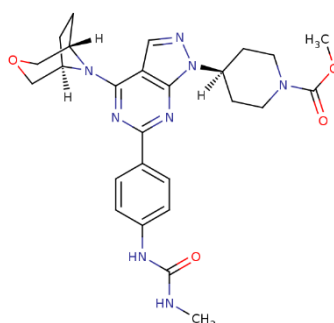
59B (10,0/6,2)



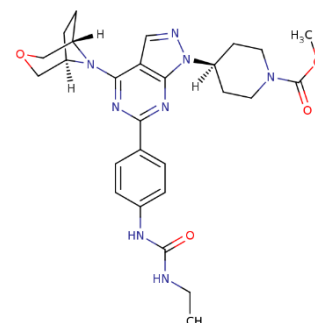
60B (9,2/-)



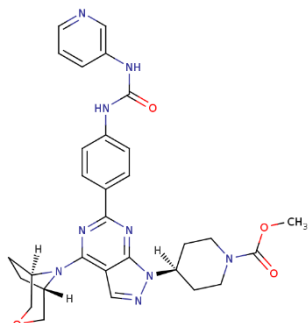
28A (10,1/8,2)



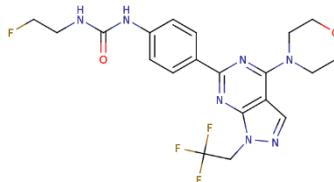
61(9,7/-)



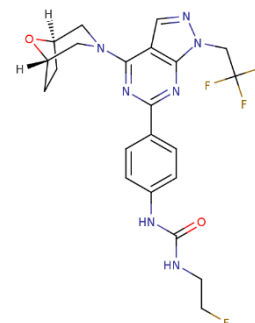
29B (9,2/-)



30B (9,8/5,7)

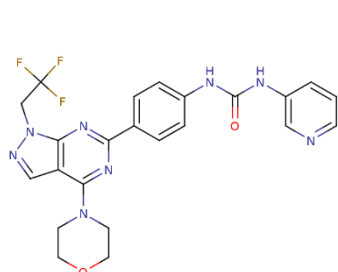


31B (9,2/6,5)

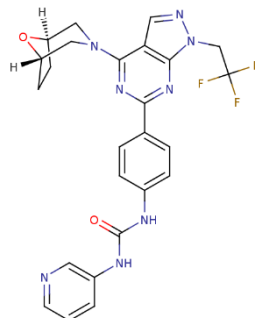


32B (9,6/5,6)

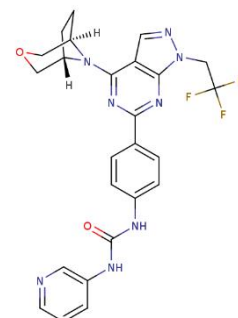
Tabela S6 - Estruturas químicas e dados de atividade dos Ligantes (pIC_{50}) do Grupo B para mTOR/PI3K α .
(continuação)



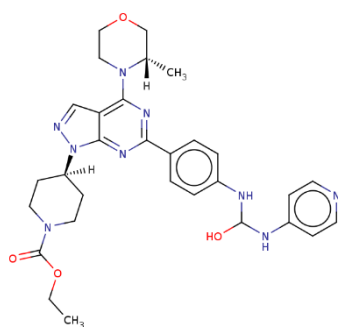
33B (9,6/8,0)



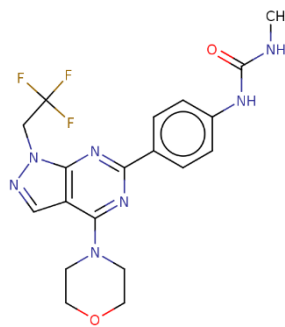
34B (9,7/-)



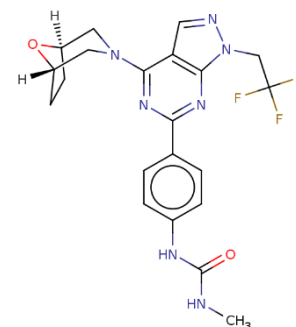
35B (9,7/6,6)



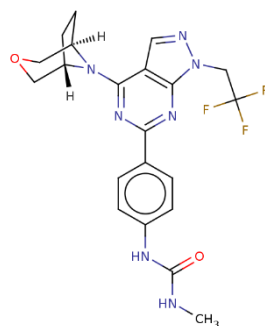
38B (9,2/7,7)



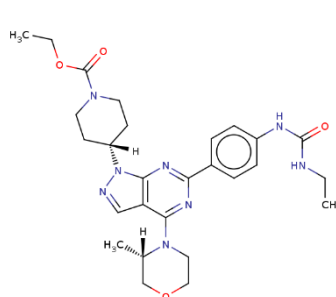
39B (9,0/6,7)



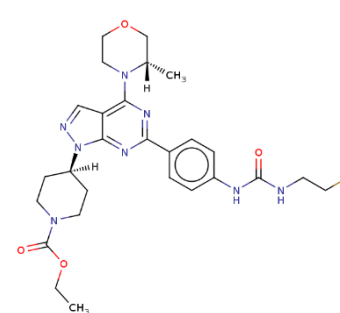
40B (9,3/5,8)



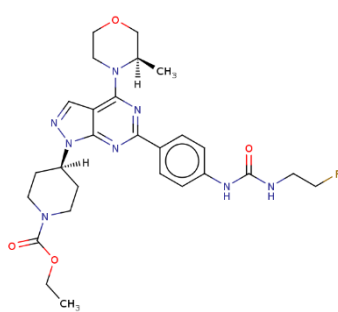
41B (9,3/-)



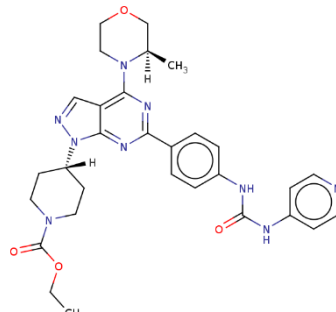
47B (8,74/6,27)



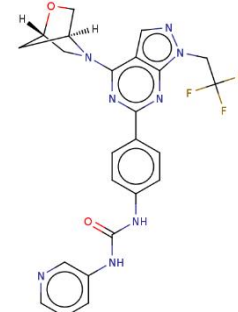
48B (8,74/6,28)



49B (8,9/5,3)

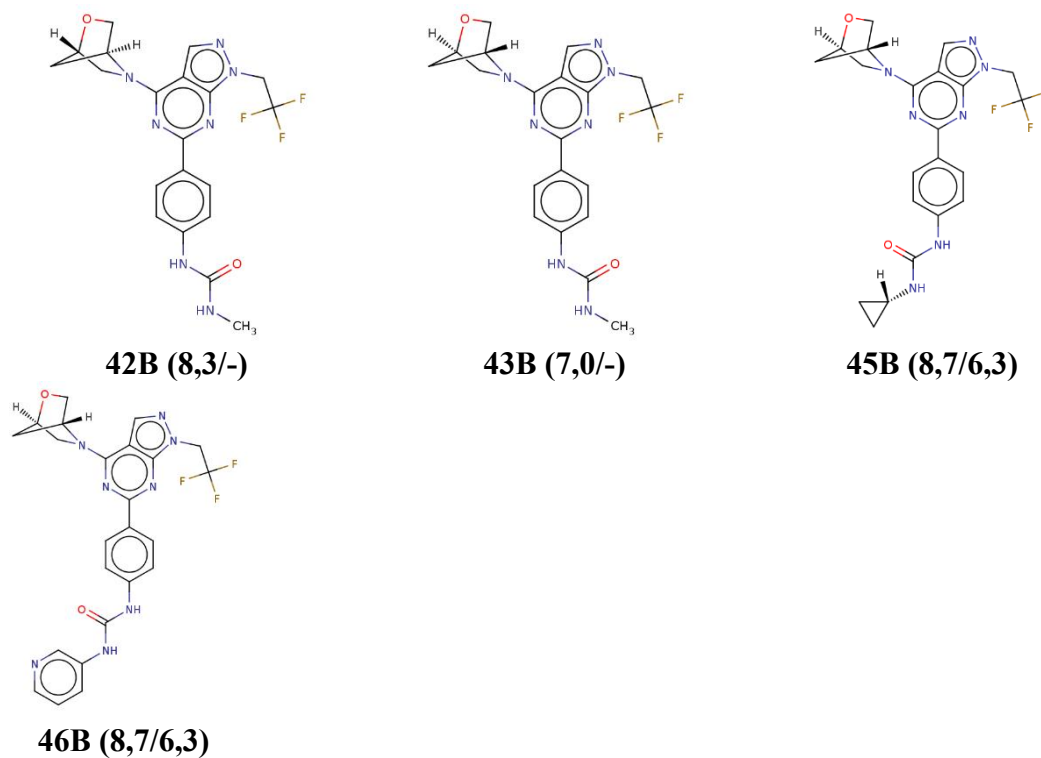


50B (9,6/6,3)



36B (8,9/6,2)

Tabela S6 - Estruturas químicas e dados de atividade (pIC₅₀) dos Ligantes do Grupo B para mTOR/PI3K α .
(conclusão)



* Os valores de pIC₅₀ são obtidos pela seguinte operação: pIC₅₀ = 9 - log₁₀(IC₅₀ em nM),
Referências: Ligantes com terminação A (CHEMBL1151963); B (CHEMBL1154707).

Tabela S7 - Valores de energia (Moldock, intermolecular e ligação de hidrogênio) obtidos em kcal.mol⁻¹ para cada composto do grupo B com a enzima mTOR.

Comp.	Moldock	Energia intermolecular	Ligação de Hidrogênio
1A	-113,61	-127,62	-3,83
2B	-117,59	-134,57	-2,60
6A	-121,18	-147,67	-2,24
11A	-153,25	-175,67	-3,30
14A	-123,94	-152,60	-5,48
15A	-134,27	-159,11	-6,31
16A	-137,08	-162,00	-7,56
17A	-145,49	-164,78	-6,62
19A	-135,77	-164,32	-6,81
20A	-148,16	-175,51	-6,61
21B	-156,83	-169,40	-4,80
22A	-143,60	-174,25	-7,78
23A	-140,22	-171,92	-6,36
24B	-139,70	-172,25	-9,87
25A	-145,72	-185,16	-6,41
26A	-150,09	-185,33	-2,39
28A	-148,53	-181,50	-6,46
29B	-159,31	-179,11	-5,48
30B	-156,04	-196,15	-3,87
31B	-138,63	-164,06	-2,81
32B	-145,89	-169,19	-3,12
33B	-140,97	-175,23	-3,13
34B	-151,33	-185,95	-2,31
35B	-141,58	-184,04	-1,01
36B	-156,82	-185,25	-2,77
38B	-137,41	-183,65	-5,34
39B	-127,51	-150,90	-2,97
40B	-131,49	-159,61	-3,35
41B	-124,67	-157,21	-0,71
42B	-133,44	-154,05	-0,69
43B	-128,00	-147,05	-0,94
45B	-148,24	-166,74	-2,75
46B	-160,43	-181,35	-2,84
47B	-148,51	-176,85	-6,91
48B	-150,86	-175,31	-5,41
49B	-146,67	-175,26	-5,32
50B	-150,49	-188,75	-3,69
51B	-139,73	-162,22	-5,26
52B	-134,13	-160,38	-4,88
53B	-152,33	-168,37	-6,52
54B	-145,86	-164,90	-5,49
55B	-153,22	-185,58	-5,18
56B	-150,03	-164,33	-4,82
58B	-144,99	-180,99	-10,45
59B	-159,62	-202,21	-10,26
60B	-157,74	-180,22	-5,02
61B	-152,87	-173,69	-5,89

Tabela S8 - Energias intermoleculares obtidas entre a enzima mTOR e os compostos do grupo B. (continua)

Comp.	Energia Intermolecular kcal.mol ⁻¹							
	Ile 2163	Pro 2169	Leu 2185	Lys 2187	Glu 2190	Asp 2191	Leu 2192	Asp 2195
1A	-3,35	-4,67	-9,33	-10,72	-8,89	0,00	-0,70	-1,52
2B	-3,93	-3,85	-9,45	-5,23	-14,84	-2,84	-2,95	-10,79
6A	-4,59	-5,53	-9,06	-8,41	-17,63	-1,34	-1,83	-8,83
11A	-3,77	-5,12	-9,40	-8,13	-20,87	-3,98	-3,06	-12,78
14A	-4,42	-5,40	-9,10	-5,85	-15,02	-2,90	-3,02	-11,00
15A	-3,91	-5,76	-9,06	-7,33	-15,36	-2,85	-2,97	-10,67
16A	-4,11	-6,29	-8,79	-7,06	-15,46	-2,79	-2,89	-10,29
17A	-3,85	-5,74	-8,98	-7,63	-16,21	-2,86	-3,00	-10,69
19A	-3,96	-6,46	-9,49	-7,73	-17,29	-2,93	-2,64	-12,08
20A	-4,03	-6,87	-9,03	-6,61	-18,20	-6,12	-4,96	-12,94
21B	-3,42	-4,59	-9,90	-8,00	-16,76	-3,49	-2,96	-12,33
22A	-3,80	-6,24	-9,30	-7,83	-16,14	-4,82	-3,15	-12,41
23A	-3,83	-6,19	-9,05	-6,67	-18,70	-3,46	-5,73	-11,36
24B	-4,37	-6,29	-9,51	-7,23	-14,61	-2,84	-2,96	-11,28
25A	-3,82	-5,97	-9,05	-5,93	-18,22	2,84	-7,84	-13,27
26A	-3,50	-5,64	-8,89	-6,55	-18,88	2,87	-8,01	-12,79
28A	-3,30	-4,42	-9,31	-7,35	-21,11	13,37	-10,86	-14,74
29B	-3,43	-4,82	-10,28	-7,42	-16,80	-3,52	-3,14	-11,57
30B	-3,56	-5,46	-10,27	-6,56	-19,19	3,48	-9,31	-13,05
31B	-4,07	-4,53	-10,50	-6,28	-15,85	-4,36	-3,47	-12,04
32B	-5,05	-3,95	-10,73	-6,18	-15,20	-2,80	-3,93	-12,64
33B	-5,63	-4,36	-10,63	-5,97	-18,16	1,92	-7,91	-13,48
34B	-4,31	-3,99	-10,43	-5,97	-17,96	1,62	-8,00	-12,98
35B	-5,74	-4,32	-12,51	-5,77	-17,78	2,11	-7,93	-13,48
36B	-5,29	-4,98	-12,57	-3,79	-18,95	-0,48	-6,59	-13,81
38B	-2,29	-2,36	-8,79	-4,97	-18,16	2,56	-7,98	-12,21
39B	-4,32	-4,59	-10,55	-6,03	-14,58	-2,91	-3,00	-11,15
40B	-4,45	-4,68	-10,41	-6,01	-14,67	-2,85	-2,92	-10,97
41B	-5,58	-4,60	-12,32	-6,30	-14,84	-2,72	-2,85	-10,35
42B	-4,91	-4,79	-11,45	-3,99	-16,17	-3,36	-2,60	-10,89
43B	-5,03	-4,84	-10,53	-4,51	-15,86	-3,30	-2,67	-11,22
45B	-5,37	-5,00	-12,48	-4,12	-19,94	-3,35	-4,59	-11,07
46B	-5,18	-3,97	-11,87	-3,72	-19,46	0,38	-6,16	-13,06
47B	-4,11	-6,18	-9,03	-8,41	-17,20	-3,43	-3,57	-10,95
48B	-3,18	-4,26	-9,14	-7,55	-20,20	-5,00	-4,04	-11,98
49B	-3,42	-5,16	-9,25	-6,26	-15,26	-3,12	-3,61	-12,25
50B	-3,77	-6,24	-9,13	-6,11	-18,98	2,00	-7,18	-13,03
51B	-3,85	-5,36	-7,99	-7,53	-17,76	-2,71	-2,91	-10,49
52B	-3,18	-5,40	-9,34	-5,05	-15,91	-2,79	-2,91	-10,49
53B	-3,18	-5,40	-9,34	-5,05	-15,91	-2,79	-2,91	-10,49
54B	-4,08	-6,27	-8,94	-7,22	-16,92	-3,30	-3,54	-10,06
55B	-3,79	-5,97	-9,01	-6,25	-19,36	1,94	-7,97	-13,52
56B	-3,39	-4,74	-9,11	-7,96	-15,96	-3,65	-3,76	-11,48
58B	-4,15	-6,74	-9,99	-8,03	-17,20	-3,87	-3,92	-11,55
59B	-4,48	-6,37	-9,63	-7,08	-17,46	2,27	-8,21	-13,85

60B	-3,43	-5,87	-9,61	-6,85	-18,62	-4,46	-3,13	-12,07
61B	-3,57	-5,97	-10,18	-7,03	-16,55	-2,83	-2,86	-10,54

Tabela S8 - Energias intermoleculares obtidas entre a enzima mTOR e os compostos do grupo B. (continuação)

Comp.	Energia Intermolecular kcal.mol ⁻¹							
	Tyr 2225	Ile 2237	Gly 2238	Trp 2239	Val 2240	Met 2345	Leu 2354	Ile 2356
1A	-7,37	-5,01	-3,39	-15,61	-5,52	-7,62	-1,86	-14,64
2B	-7,75	-4,89	-3,32	-16,04	-5,71	-7,22	-1,63	-14,14
6A	-7,63	-5,18	0,99	-17,54	-6,76	-6,28	0,00	-14,55
11A	-8,19	-5,28	-3,29	-16,65	-5,26	-7,14	-1,67	-14,80
14A	-7,39	-5,49	1,25	-18,50	-7,01	-6,16	0,00	-15,30
15A	-7,40	-5,17	0,32	-17,75	-7,10	-6,36	0,00	-14,55
16A	-7,51	-4,87	-0,80	-17,02	-6,43	-6,53	-0,45	-14,75
17A	-7,15	-4,90	-0,47	-17,53	-7,61	-6,42	-0,33	-14,83
19A	-7,55	-5,21	-3,36	-15,99	-5,68	-7,38	-1,74	-13,60
20A	-8,08	-4,98	-3,29	-16,10	-5,10	-7,59	-1,82	-14,02
21B	-7,07	-6,84	-0,53	-19,35	-9,20	-4,18	-0,48	-15,38
22A	-6,02	-4,83	-3,05	-16,23	-6,93	-7,32	-1,36	-12,90
23A	-7,92	-4,62	-3,26	-15,74	-5,13	-7,70	-1,89	-13,85
24B	-8,98	-5,94	-1,11	-17,33	-11,05	-5,96	-2,71	-15,05
25A	-7,66	-4,47	-3,32	-16,01	-5,40	-7,53	-1,76	-14,65
26A	-9,93	-5,61	-2,77	-9,76	-2,87	-4,30	-2,18	-16,79
28A	-7,29	-4,63	-3,35	-16,30	-5,91	-7,67	-1,82	-14,86
29B	-8,13	-7,10	-3,31	-20,97	-12,86	-6,07	-1,32	-14,35
30B	-8,97	-6,84	-3,98	-20,19	-7,36	-4,63	-2,15	-16,12
31B	-6,72	-5,02	-3,34	-16,76	-7,39	-6,71	-1,11	-14,29
32B	-8,88	-6,55	1,97	-19,35	-10,61	-5,24	-0,87	-15,04
33B	-7,10	-4,91	0,73	-17,83	-8,00	-6,00	0,00	-14,43
34B	-8,60	-5,56	0,00	-20,95	-11,43	-6,43	-1,47	-14,60
35B	-10,43	-3,99	-4,22	-18,30	-5,43	-6,72	-0,57	-14,68
36B	-6,73	-6,91	-3,83	-18,50	-8,93	-5,15	-0,86	-15,93
38B	-9,90	-4,92	-2,62	-17,30	-6,66	-6,98	-0,64	-15,96
39B	-6,87	-4,80	-3,37	-16,59	-7,09	-7,21	-1,22	-14,97
40B	-9,23	-6,42	-0,43	-18,39	-12,00	-6,22	-2,36	-15,60
41B	-10,23	-4,44	-4,02	-18,22	-5,54	-7,16	-0,60	-14,16
42B	-6,36	-6,40	-1,23	-21,03	-8,19	-6,62	-0,88	-14,28
43B	-8,30	-6,60	-2,23	-15,67	-6,41	-6,69	-1,07	-11,82
45B	-6,63	-6,89	-3,97	-18,48	-8,95	-5,09	-0,88	-16,02
46B	-6,71	-6,86	-3,80	-18,39	-9,10	-5,13	-0,86	-15,97
47B	-8,20	-4,83	-3,08	-17,79	-5,85	-7,72	-1,43	-15,31
48B	-8,66	-4,93	-2,64	-18,95	-7,98	-6,85	-0,53	-16,40
49B	-8,81	-5,42	-3,47	-15,21	-5,58	-4,62	-2,14	-16,70
50B	-9,14	-5,12	-3,56	-14,77	-5,21	-5,33	-2,11	-16,65
51B	-2,62	-3,72	-4,06	-17,66	-0,75	-9,72	-2,99	-15,56
52B	-10,89	-5,51	-3,58	-15,81	-5,91	-7,91	-2,61	-10,23
53B	-10,89	-5,51	-3,58	-15,81	-5,91	-7,91	-2,61	-10,23
54B	-7,59	-5,17	0,00	-17,01	-7,10	-6,27	-0,32	-14,93
55B	-7,73	-4,40	-3,21	-16,13	-5,56	-7,51	-1,70	-15,09
56B	-8,06	-4,93	-3,34	-16,11	-5,39	-7,50	-1,76	-15,43
58B	-4,81	-5,49	-1,41	-23,48	-11,55	-4,86	-1,49	-13,37
59B	-8,94	-6,00	-0,64	-17,54	-11,39	-6,66	-2,55	-14,91

60B	-9,24	-5,98	0,00	-21,08	-8,88	-6,74	-2,31	-14,53
61B	-8,46	-6,96	-4,12	-19,48	-12,47	-5,87	-1,43	-15,29

Tabela S8 - Energias intermoleculares obtidas entre a enzima mTOR e os compostos do grupo B. (conclusão)

Comp.	Energia Intermolecular kcal.mol ⁻¹					
	Asp 2357	Phe 2358	Asp 2360	IC ₅₀ (nM)	pIC ₅₀ Exp.	pIC ₅₀ [*] Pred.
1A	-9,25	0,00	0,00	9,60	8,02	8,32
2B	-22,98	-2,59	-1,28	0,46	9,34	8,42
6A	-23,20	-1,35	-1,18	1,40	8,85	8,31
11A	-22,51	-2,18	-1,08	46,00	7,34	7,96
14A^T	-22,09	-2,63	-1,28	22,00	7,66	8,52
15A	-22,91	-2,54	-1,30	2,10	8,68	9,25
16A^T	-23,07	-2,12	-1,29	2,00	8,70	8,96
17A	-22,95	-2,52	-1,29	1,10	8,96	9,25
19A	-21,47	-1,99	-1,09	4,30	8,37	8,63
20A	-23,28	-2,71	-1,09	1,00	9,00	8,75
21B	-22,15	-3,09	-1,30	0,87	9,06	9,02
22A	-20,57	-4,17	-1,45	0,61	9,21	8,96
23A^T	-24,27	-2,74	-1,31	0,45	9,35	8,88
24B	-21,29	-2,75	-1,28	0,22	9,66	9,54
25A^T	-25,57	-4,89	-1,72	0,30	9,52	9,56
26A	-26,10	-4,89	-1,72	0,83	9,08	9,21
28A	-24,75	-4,09	-1,35	0,08	10,10	9,82
29B	-23,32	-2,97	-1,31	0,62	9,21	9,50
30B	-25,10	-4,26	-1,26	0,16	9,80	9,64
31B	-21,76	-4,30	-1,54	0,60	9,22	9,04
32B	-23,71	-4,03	-1,35	0,23	9,64	9,45
33B	-24,99	-4,90	-1,63	0,23	9,64	9,23
34B^T	-25,09	-4,93	-1,63	0,19	9,72	10,15
35B	-25,17	-4,95	-1,61	0,20	9,70	9,98
36B	-26,08	-5,02	-2,42	1,20	8,92	8,63
38B	-25,72	-4,76	-1,69	0,58	9,24	9,50
39B^T	-21,63	-2,73	-1,30	1,00	9,00	9,11
40B	-21,43	-2,71	-1,31	0,50	9,30	9,35
41B	-23,01	-2,46	-1,27	0,56	9,25	9,37
42B^T	-23,77	-2,54	-2,35	5,50	8,26	7,84
43B	-22,90	-2,62	-2,01	91,00	7,04	7,14
45B^T	-24,47	-2,87	-2,37	53,00	7,28	7,50
46B	-26,27	-4,87	-2,25	17,00	7,77	8,05
47B	-21,59	-3,34	-1,32	1,80	8,74	8,67
48B^T	-22,51	-2,70	-1,20	1,80	8,74	8,63
49B	-23,51	-3,24	-1,33	1,20	8,92	9,26
50B	-25,49	-4,52	-1,74	0,28	9,55	9,27
51B	-23,90	-2,56	-1,25	84,00	7,08	7,64
52B^T	-23,12	-2,53	-1,25	2,30	8,64	8,78
53B	-23,12	-2,53	-1,25	1,90	8,72	8,78
54B	-22,75	-3,38	-1,29	0,32	9,49	8,97
55B	-25,44	-4,88	-1,60	0,20	9,70	9,52
56B	-22,64	-2,66	-1,29	0,17	9,77	9,10
58B	-21,02	-2,74	-1,29	0,20	9,70	9,42
59B	-25,01	-5,32	-1,67	0,11	9,96	10,46

60B	-24,09	-3,27	-1,66	0,62	9,21	9,29
61B	-23,23	-2,51	-1,29	0,22	9,66	9,52

^T Grupo de teste

*valores previstos pela equação 5.3

Tabela S9 - Valores de energia (Moldock, intermolecular e ligação de hidrogênio) obtidos em kcal.mol⁻¹ para cada composto do grupo B com a enzima PI3K α .

Comp.	Moldock	Energia intermolecular	Ligação de Hidrogênio
1A	-71,54	-91,30	-2,49
2B	-68,24	-92,06	-0,37
6A	-73,05	-101,37	3,22
7A	-64,65	-95,54	-4,24
9A	-74,77	-110,53	-4,07
10A	-70,21	-91,28	3,56
11A	-60,98	-101,02	-0,48
12A	-75,34	-106,25	-4,77
13A	-75,22	-113,53	1,69
14A	-58,55	-85,82	1,78
15A	-74,81	-104,94	3,00
16A	-64,03	-83,20	-2,99
19A	-55,67	-85,67	-0,53
20A	-74,62	-103,26	-7,95
22A	-72,22	-105,12	0,93
23A	-68,13	-98,35	0,41
24B	-64,76	-94,67	3,63
25A	-69,01	-107,55	-3,44
28A	-84,79	-121,47	-0,86
30B	-58,01	-93,16	-0,81
31B	-72,21	-96,23	-1,82
32B	-67,33	-98,40	8,01
33B	-73,46	-107,55	-0,85
35B	-62,08	-101,43	-2,34
36B	-70,73	-99,31	-3,92
38B	-61,44	-96,54	-4,97
39B	-80,97	-99,08	1,02
40B	-72,64	-94,07	0,56
47B	-78,08	-104,61	-0,60
48B	-63,72	-99,16	-6,24
49B	-51,65	-72,34	-3,49
50B	-77,48	-98,46	-5,70
51B	-68,06	-100,68	0,33
52B	-78,21	-108,07	3,44
53B	-76,68	-96,89	-6,70
54B	-78,55	-115,84	-0,35
56B	-76,64	-100,92	-1,95
59B	-59,16	-101,10	-6,82

Tabela S10 - Energias intermoleculares obtidas entre a enzima PI3K α e os compostos do grupo B.
(continua)

Comp.	Energia Intermolecular kcal.mol ⁻¹							
	Met772	Thr773	Ser774	Lys802	Asp805	Asp806	Leu807	Gln809
1A	-0,96	-2,90	0,97	3,89	-0,74	0,00	-0,63	0,00
2B	-2,77	-1,25	4,53	22,62	-9,28	-1,99	-3,58	-0,69
6A	0,85	-4,59	0,38	28,11	-9,32	-2,79	-4,31	-0,38
7A	-1,42	-1,40	8,43	28,29	-7,52	-2,82	-1,79	-0,36
9A	0,00	-8,83	-8,41	31,58	-10,02	-2,40	-3,32	-0,58
10A	2,27	-5,87	-2,92	29,16	-9,65	-2,62	-4,34	-0,38
11A	3,48	-8,26	-2,36	29,96	-11,02	2,01	-5,71	-1,45
12A	-1,71	-2,82	2,77	8,73	-14,28	-0,78	-6,53	-4,85
13A	-0,72	-11,07	-8,63	30,61	-10,26	-2,54	-4,20	-0,39
14A	11,83	-6,03	-4,18	32,27	-10,94	-2,46	-4,14	-0,40
15A	1,95	-7,78	-1,83	25,71	-8,90	-2,71	-4,13	-1,00
16A	-3,00	-1,73	9,24	23,83	-9,52	-1,71	-3,41	-0,41
19A	1,04	-6,85	-3,43	31,46	-9,85	-2,83	-3,85	-0,56
20A	3,27	-12,68	8,74	22,14	-9,75	-6,54	-4,11	-1,18
22A	-1,91	-1,46	-2,11	34,37	-15,10	-4,51	-4,12	-1,02
23A	2,45	-6,76	-2,52	37,29	-17,27	0,00	-5,15	-2,22
24B	0,00	-6,89	-2,34	33,46	-11,22	-2,05	-4,16	-0,42
25A	-0,75	-3,08	-5,59	28,96	-19,96	8,57	-8,41	-2,01
28A	2,22	-10,39	-1,76	26,51	-20,12	-6,40	-3,75	4,62
30B	2,01	-6,22	-5,56	33,86	-21,36	6,10	-8,37	-2,92
31B	3,07	-0,73	-2,60	32,65	-18,48	0,00	-2,94	-1,16
32B	0,00	-0,34	-3,92	33,94	-16,91	-1,42	-4,24	-1,59
33B	1,77	0,00	-4,58	32,53	-21,10	6,63	-8,22	-3,39
35B	5,02	-0,64	-4,64	33,67	-21,94	8,34	-8,69	-3,21
36B	3,88	-1,80	-5,67	34,09	-22,23	0,37	-5,55	-4,11
38B	-2,10	-1,43	-5,34	25,45	-19,54	6,47	-7,57	-1,81
39B	-0,47	-1,02	-3,09	25,92	-9,61	-1,30	-3,90	-1,24
40B	1,02	-2,58	-2,93	31,27	-11,59	-1,32	-4,43	-0,93
47B	-1,53	-3,85	3,01	26,84	-12,90	1,91	-2,30	-0,93
48B	-3,94	0,00	-4,16	29,08	-14,11	0,00	-5,10	0,00
49B	-3,01	-1,63	-4,96	32,91	-15,61	-1,03	-4,42	-1,00
50B	0,68	-3,05	1,53	24,14	-19,29	-1,99	-3,02	-3,28
51B	2,59	-10,76	1,92	34,61	-11,48	-2,10	-4,26	-0,42
52B	1,05	-7,81	-1,89	20,72	-7,47	-3,01	-3,73	-1,05
53B	5,49	-9,14	-4,58	30,70	-11,56	2,67	-6,07	-1,69

54B	0,67	-6,00	-3,77	30,97	-12,22	1,46	-5,38	-1,19
56B	0,69	-1,74	5,07	34,30	-15,67	-3,93	-3,61	-1,02
59B	4,85	-10,57	-0,75	32,53	-22,02	7,30	-8,15	-0,75

Tabela S10 - Energias intermoleculares obtidas entre a enzima PI3K α e os compostos do grupo B. (continuação)

Comp.	Energia Intermolecular kcal.mol ⁻¹							
	Asp810	Tyr836	Ile848	Glu849	Val850	Val851	Thr856	Ser919
1A	-0,54	-10,35	-7,20	-2,54	-5,46	1,42	0,00	-2,43
2B	-5,99	-14,15	-10,36	13,36	-7,75	1,41	-0,99	-1,87
6A	-3,19	-10,27	-8,14	-3,18	-6,04	0,00	0,00	-0,37
7A	-7,49	-12,32	-10,32	6,97	-7,36	1,51	-3,26	-12,31
9A	-4,17	-10,55	-8,02	-4,16	-5,65	-1,69	0,00	-3,52
10A	-3,75	-10,16	-7,72	-2,55	-6,31	2,33	-6,47	-6,14
11A	-2,01	-10,36	-7,80	-3,52	-4,91	-0,74	-1,18	-3,99
12A	-2,10	-12,05	-9,34	3,99	-6,46	0,51	-0,81	-5,04
13A	-4,87	-10,44	-7,90	-2,92	-7,19	2,23	0,00	-1,90
14A	-5,72	-12,15	-8,76	4,99	-5,46	-1,67	0,00	0,00
15A	-3,19	-10,19	-8,25	-2,98	-5,96	0,69	0,00	0,00
16A	-6,94	-16,14	-11,02	15,84	-7,86	3,65	-0,54	-1,21
19A	-3,97	-10,44	-7,73	-4,09	-5,91	-1,09	-0,89	-0,43
20A	-13,88	-10,68	-9,54	-3,19	-5,74	3,26	0,00	-0,32
22A	-8,18	-14,22	-10,16	18,36	-7,41	0,00	-1,25	-2,29
23A	-5,46	-10,76	-7,47	2,31	-5,78	-0,55	-1,05	-0,72
24B	-5,51	-11,55	-7,59	-0,40	-8,95	-0,53	-0,92	-0,47
25A	0,44	-10,73	-6,74	-0,98	-7,64	-1,09	-1,93	-0,74
28A	-4,78	-11,47	-6,51	-0,73	-6,68	-1,03	0,00	0,00
30B	1,57	-12,90	-7,72	3,89	-9,59	-2,56	0,00	-0,70
31B	-8,65	-10,45	-5,86	3,24	-5,20	-5,02	-0,47	-0,50
32B	-8,86	-13,63	-6,70	0,00	-8,13	-2,36	-0,52	-0,49
33B	-0,43	-9,13	-6,33	-3,91	-3,40	-3,19	-0,63	-0,51
35B	0,00	-10,02	-7,79	0,73	-9,40	-12,11	0,00	0,00
36B	-2,32	-12,24	-7,24	1,21	-6,34	-10,40	0,00	0,32
38B	1,75	-12,15	-6,31	9,01	-7,85	-6,21	-2,67	-1,57
39B	-4,38	-9,42	-8,06	-2,69	-6,44	-2,83	0,00	0,00
40B	-4,23	-9,83	-7,08	-0,38	-9,05	-4,66	0,00	0,00
47B	-6,94	-14,14	-9,14	13,82	-8,29	-4,04	-0,69	-1,10
48B	-6,40	-12,93	-9,34	18,30	-8,46	-5,60	5,49	-4,56
49B	-8,03	-11,31	-6,92	-1,98	-9,49	3,02	2,30	-3,87
50B	-5,92	-14,79	-8,29	3,87	-7,29	2,43	-0,58	-3,18
51B	-5,66	-9,04	-8,74	13,67	-9,36	0,57	-0,30	-3,55
52B	-1,68	-11,84	-9,15	-2,47	-8,11	0,00	-0,94	-1,14
53B	-1,72	-10,66	-7,45	1,10	-5,96	3,52	0,00	-0,31
54B	-5,14	-10,52	-7,66	-3,70	-5,48	-0,91	-1,14	-1,26

56B	-8,58	-16,16	-9,28	7,21	-4,51	7,72	-0,44	-3,52
59B	-2,02	-13,39	-7,10	2,45	-7,22	-1,92	0,00	0,00

Tabela S10 - Energias intermoleculares obtidas entre a enzima PI3K α e os compostos do grupo B.
(conclusão)

Comp.	Energia Intermolecular kcal.mol ⁻¹				IC ₅₀ (nM) Exp.	pIC ₅₀ Exp.	pIC ₅₀ * Pred.
	Phe930	Ile932	Asp933	Gly935			
1A	-4,17	-15,20	12,95	0,00	47,00	7,33	7,36
2B^T	-2,97	-18,79	15,75	-1,75	100,00	7,00	7,12
6A	-3,88	-14,18	11,38	-1,81	23,00	7,64	6,80
7A	-2,85	-14,10	6,48	-1,18	404,00	6,39	6,07
9A	-3,88	-14,02	12,84	-1,85	801,00	6,10	6,59
10A	-3,92	-14,32	12,35	-1,78	41,00	7,39	7,42
11A	-4,06	-14,35	12,53	-3,11	631,00	6,20	6,57
12A	-2,47	-11,84	19,00	-10,30	284,00	6,55	6,86
13A	-3,22	-14,00	13,06	-1,78	14,00	7,85	6,52
14A	-2,92	-13,73	12,85	-1,74	211,00	6,68	6,39
15A	-4,03	-14,23	12,58	-1,82	225,00	6,65	6,76
16A	-3,03	-17,02	17,14	-1,76	149,00	6,83	6,72
19A^T	-3,46	-13,89	11,79	-1,86	1026,00	5,99	6,52
20A	-4,51	-15,00	10,24	-3,59	681,00	6,17	5,93
22A	-2,80	-18,42	10,72	-3,81	505,00	6,30	6,66
23A^T	-3,29	-14,72	16,10	-3,31	661,00	6,18	6,23
24B	-2,08	-13,31	14,83	-1,82	1803,00	5,74	5,71
25A	-2,35	-12,89	30,84	-9,23	18,00	7,74	7,61
28A^T	-2,43	-12,42	42,32	-10,81	6,00	8,22	8,36
30B^T	-3,50	-9,85	24,10	-9,05	1857,00	5,73	5,97
31B	-2,38	-14,27	32,62	-4,27	314,00	6,50	6,64
32B	-2,34	-12,17	23,30	-5,12	2746,00	5,56	5,46
33B	-3,80	-14,02	23,08	-8,71	10,00	8,00	7,54
35B	-3,00	-12,91	22,28	-8,41	227,00	6,64	6,64
36B	-3,53	-13,85	25,95	-9,02	602,00	6,22	5,97
38B	-3,25	-13,18	33,54	-9,43	18,00	7,74	7,38
39B	-3,59	-13,30	17,64	-1,91	194,00	6,71	7,21
40B	-3,16	-12,77	18,18	-2,75	1616,00	5,79	5,89
47B	-3,88	-14,56	21,10	-2,60	533,00	6,27	6,17
48B	-3,24	-14,24	21,70	-5,14	521,00	6,28	6,14
49B^T	-2,89	-12,38	21,73	-3,25	4546,00	5,34	5,61
50B^T	-2,95	-10,30	39,41	-8,72	517,00	6,29	6,14
51B	-4,44	-14,69	13,14	-1,68	3877,00	5,41	5,55
52B	-4,84	-9,17	7,98	-1,67	268,00	6,57	6,58
53B	-2,76	-14,89	17,28	-3,60	721,00	6,14	6,23

54B^T	-3,95	-14,30	15,07	-3,54	490,00	6,31	6,80
56B	-3,02	-12,88	17,71	-3,36	704,00	6,15	6,24
59B	-2,71	-13,16	29,99	-9,24	613,00	6,21	6,47

^T Grupo de teste

*valores previstos pela equação 5.4