

Artigo

Características Estruturais das Proteínas Cinasas e Seus Inibidores em Uso Clínico

Pauli, F. P.; Barreiro, E. J.; Barbosa, M. L. C.*

Rev. Virtual Quim., 2018, 10 (5), 1280-1303. Data de publicação na Web: 11 de outubro de 2018

<http://rvq.sbq.org.br>

Structural Characteristics of Protein Kinases and Their Inhibitors in Clinical Use

Abstract: Protein kinases (PKs) are enzymes responsible for transferring the γ -phosphate group from adenosine triphosphate (ATP) to target proteins, mediating a wide range of signal transduction pathways and regulating different cellular activities. The deregulation and/or overexpression of these protein kinases result in inappropriate cellular responses, culminating in the establishment and development of several diseases, *e.g.* diabetes, inflammatory diseases and cancer. Since PKs account for around 22 % of the proteins encoded by the human druggable genome, they have been widely recognized as promising therapeutic targets for treatment of different diseases. This review details the main structural features of protein kinases, as well as their physiological functions and inhibitors in clinical use.

Keywords: Protein kinase; cancer; inflammation; kinase inhibitors.

Resumo

Proteínas cinases (PKs) são enzimas responsáveis pela transferência do grupo γ -fosfato do trifosfato de adenosina (ATP) para proteínas-alvo, mediando uma ampla gama de transduções de sinais e regulando diferentes atividades celulares. A desregulação e/ou superexpressão dessas proteínas cinases resulta em respostas celulares inadequadas, culminando no estabelecimento e desenvolvimento de diversas doenças, *e.g.* diabetes, doenças inflamatórias e câncer. Uma vez que as PKs representam cerca de 22 % das proteínas codificadas pelo genoma humano passíveis de modulação farmacológica, são amplamente reconhecidas como alvos terapêuticos promissores para o tratamento de diversas doenças. Esta revisão detalha as principais características estruturais das proteínas cinases, bem como suas funções fisiológicas e os seus inibidores em uso clínico.

Palavras-chave: Proteína cinase; câncer; inflamação; inibidores de cinase.

* Universidade Federal do Rio de Janeiro, Departamento de Fármacos e Medicamentos, Faculdade de Farmácia, Av. Carlos Chagas Filho, 373, Centro de Ciências da Saúde, Bloco L subsolo, sala 23, Cidade Universitária, CEP 21941-902, Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

✉ marialeticia@pharma.ufrj.br

DOI: [10.21577/1984-6835.20180088](https://doi.org/10.21577/1984-6835.20180088)

Características Estruturais das Proteínas Cinases e Seus Inibidores em Uso Clínico

Fernanda P. Pauli,^{a,b} Eliezer J. Barreiro,^b Maria Leticia de C. Barbosa^{b,c,*}

^a Universidade Federal Fluminense, Centro de Estudos Gerais, Instituto de Química. Rua Outeiro de São Batista s/n, Campus do Valonguinho, Departamento de Química Orgânica, laboratório 200, Centro, CEP 24020-150, Niterói-RJ, Brasil;

^b Universidade Federal do Rio de Janeiro, Laboratório de Avaliação e Síntese de Substâncias Bioativas (LASSBio), Instituto de Ciências Biomédicas, Av. Carlos Chagas Filho, 373, Centro de Ciências da Saúde, Bloco F segundo-andar, sala F2-16, Cidade Universitária, CEP 21941-902, Rio de Janeiro-RJ, Brasil;

^c Universidade Federal do Rio de Janeiro, Laboratório de Síntese Orgânica e Química Medicinal (LaSOQuiM), Departamento de Fármacos e Medicamentos, Faculdade de Farmácia, Av. Carlos Chagas Filho, 373, Centro de Ciências da Saúde, Bloco A subsolo, sala 34, Cidade Universitária, CEP 21941-902, Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

* marialeticia@pharma.ufrj.br

Recebido em 6 de março de 2018. Aceito para publicação em 26 de setembro de 2018

1. Definição e Classificação das Proteínas Cinases
2. Etimologia e Tradução do Termo “Kinase”
3. Classificação das Proteínas Cinases
4. Estrutura e Conformação das Proteínas Cinases
5. Função Fisiológica das Proteínas Cinases
6. Proteínas Cinases como Alvo Terapêutico
7. Inibidores das Proteínas Cinases
 - 7.1. Anticorpos monoclonais
 - 7.2. Inibidores da atividade catalítica no domínio cinase
8. Considerações Finais

1. Definição e Classificação das Proteínas Cinases

Proteínas cinases (do inglês, *protein kinases* - PKs) são enzimas que transferem o

grupo γ -fosfato do trifosfato de adenosina (ATP) para proteínas-alvo, mediando uma ampla gama de transduções de sinais responsáveis pela regulação de diversas atividades celulares, *e.g.* proliferação, sobrevivência, apoptose, metabolismo,

transcrição, diferenciação, entre outros (Figura 1).^{1,2}

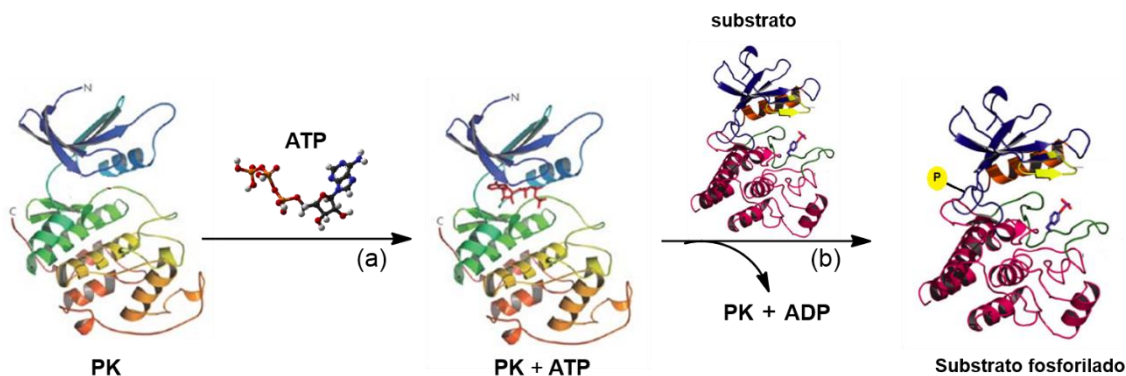


Figura 1. Representação esquemática da fosforilação de proteínas-alvo com a catálise da PK; (a) o ATP se liga ao seu sítio de ligação na PK em sua conformação ativa; (b) a PK promove a transferência do grupo γ -fosfato do ATP (na figura demonstrado pelo P em amarelo) para uma proteína-alvo (substrato proteico)

Estudos pioneiros sobre as proteínas cinases foram realizados por Edmond Fischer e Edwin Krebs, por volta de 1956, ano em que eles relatam o primeiro estudo evidenciando o papel chave das PKs na sinalização celular.³ Após relatada a importância dessa classe de proteínas, Krebs e Fischer foram laureados com o Prêmio Nobel em Fisiologia e Medicina, no ano de 1992, pela descoberta da fosforilação reversível como um mecanismo de regulação biológica.⁴

A partir de então, os estudos sobre essa classe de proteínas se intensificaram e, até o presente momento, são descritas 518 proteínas cinases humanas, as quais correspondem a aproximadamente 1,7 % de todos os genes humanos², representando a maior família de proteínas dos eucariotos.⁵

2. Etimologia e Tradução do Termo “Kinase”

O termo do inglês *protein kinase* é traduzido para o português e encontrado em artigos científicos como “proteína cinase”⁶ ou “proteína quinase”^{5,7}, não havendo uma tradução exclusiva definida em um compêndio nacional oficial. No entanto, a

tradução do termo *kinase* pode ser guiada em analogia a outras palavras em português que possuem etimologia semelhante. O adjetivo *kinetic* (inglês) ou cinético (português) vem do termo grego *KINETIKOS* que significa “o que move”, que, por sua vez, é originado do verbo grego *KINEIN* que significa “deslocar, movimentar”. Já o substantivo *kinetics* (inglês) ou cinética (português) está relacionado ao estudo do movimento e das forças atuantes em um corpo em movimento⁸. Como exemplo, a palavra do inglês *pharmacokinetics* (*pharmaco-* + *kinetics*) é traduzida para o português como farmacocinética e representa o estudo do movimento do fármaco no organismo.

Da mesma maneira, ao realizar o estudo etimológico para o termo do inglês *kinase*, têm-se o verbo grego *KINEIN* referente a “deslocar, movimentar” mais o sufixo químico ASE que é referente a enzimas⁸, condizendo com a propriedade da enzima em transferir ou movimentar um grupo químico fosfato a partir de uma molécula de ATP para um substrato. Portanto, a tradução mais adequada para o termo em inglês *protein kinase* seria proteína cinase.

3. Classificação das Proteínas Cinases

As proteínas cinases são classificadas quanto à especificidade do aminoácido hidroxilado a ser fosforilado. Quando a transferência do grupo fosfato é realizada para resíduos de treonina ou serina no substrato, as PKs são classificadas como serina-treonina cinases. Por sua vez, quando a fosforilação ocorre em resíduos de tirosina do substrato, as PKs são classificadas como tirosina cinases.^{5,9}

Outra classificação das PKs é relacionada à sua organização e localização celular, sendo subdivididas em proteínas cinases receptoras e não-receptoras. As proteínas cinases receptoras são enzimas transmembranares que são obrigatoriamente ativadas por um ligante extracelular; enquanto as não-receptoras são enzimas localizadas no citoplasma, as quais são reguladas por mecanismo diversos. Ambas as classes de PKs apresentam um domínio cinase que é responsável pela atividade catalítica.⁷

Particularmente no caso das tirosinas cinases (do inglês, *Tyrosine Kinases* - RTKs), nos seres humanos existem cerca de 90 TKs, dentre as quais 58 são tirosinas cinases receptoras (do inglês, *Receptor Tyrosine Kinases* - RTKs) e 32 são não-receptoras (do inglês, *Non-Receptor Tyrosine Kinases* - NRTKs).¹⁰ Como exemplos de RTKs têm-se o receptor de insulina e os receptores de fatores de crescimento, e.g. receptor do fator de crescimento epidérmico (do inglês, *Epidermal Growth Factor Receptor* - EGFR), receptor do fator de crescimento derivado das plaquetas (do inglês, *Platelet-derived Growth Factor Receptor* - PDGFR) e receptor do fator de crescimento do endotélio vascular (do inglês, *Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-VEGFR*).^{5,10} Por outro lado, como exemplos de NRTKs podem ser citadas as enzimas janus cinases (do inglês, *Janus Kinases* - JAKs) e a cinase de adesão focal (do inglês, *Focal Adhesion Kinase* - FAK).^{5,7}

4. Estrutura e Conformação das Proteínas Cinases

As proteínas cinases apresentam regiões conservadas em suas estruturas, com destaque para a presença de um domínio cinase característico desta família de proteínas, o qual é responsável pela atividade catalítica de transferência do grupamento γ -fosfato do ATP para o substrato. Este domínio cinase é, por sua vez, caracterizado por apresentar dois lóbulos ou subdomínios. O lóbulo *N*-terminal é formado por uma série de cadeias β e uma α -hélice proeminente, denominada α -hélice C. O outro subdomínio é o lóbulo *C*-terminal, que varia em tamanho, sequência e topologia, mas é maior do que o domínio *N*-terminal e predominantemente α -helicoidal. Os dois lóbulos se ligam por meio da região de ligação do ATP, também denominada *hinge* (Figura 2).^{10,11} O termo *hinge* é traduzido para o português como “dobradiça”, sendo referente à conotativa de que esta região é altamente flexível e está localizada entre os dois subdomínios que constituem o domínio cinase das PKs, i.e. os lóbulos *N* e *C*-terminais (vide Figura 2).^{10,11}

Além disso, como mostrado na Figura 2, no subdomínio *N*-terminal há um resíduo de aminoácido na cadeia lateral ao *hinge* denominado *gatekeeper*. O *gatekeeper* é distinto para as diferentes cinases e é responsável por definir o volume do sítio de ligação do ATP. No mesmo lóbulo *N*-terminal há também uma região rica em glicina (GXGXXG), conhecida como *P-loop*. O *P-loop* é uma alça flexível considerada determinante na conformação das cavidades adjacentes ao *hinge*.^{1,10-13} A alça de ativação ou *A-loop* é o principal fragmento regulador da atividade das proteínas cinases. O *A-loop* pode variar significativamente no tamanho e na sequência de aminoácidos entre as subfamílias das PKs. No entanto, há uma tríade de aminoácidos conservada em todas as proteínas cinases conhecida como DFG, constituída pela sequência aspartato (D), fenilalanina (F) e glicina (G) (Figura 3).¹⁰

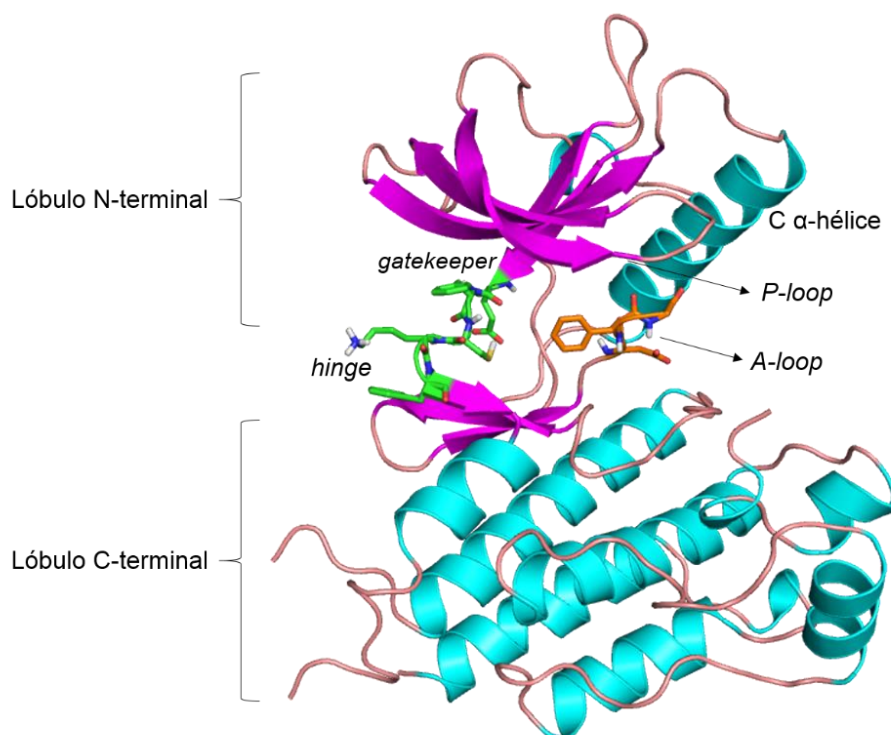


Figura 2. Estrutura geral do domínio cinase das PKs. É demonstrado o lóbulo *N*-terminal (em lilás), o lóbulo *C*-terminal (em azul), a alça rica em glicina (*P-loop*), a região do *hinge* (em verde) e os aminoácidos Asp-Phe-Gly (DFG) da alça de ativação (*A-loop*) destacados em laranja. Estrutura disponível no *Protein Data Bank* - PDB: [5EW3](#)¹², figura gerada no PyMol

Outra região comum e conservada entre as PKs é a região de ligação do ATP (Figura 3), composta por três principais subsítios: (a) região de ligação do anel purínico, na qual o núcleo de adenina do ATP forma duas ligações de hidrogênio com a cadeia principal do aminoácido denominado *hinge*; (b) região de ligação ao açúcar, na qual a pentose do ATP é acomodada em uma região hidrofílica; e (c) região de reconhecimento dos fosfatos, em que a cadeia lateral do resíduo de aspartato do DFG coordena o íon Mg^{2+} e direciona os fosfatos no sítio de ligação do ATP. As regiões hidrofóbicas adjacentes não são utilizadas no reconhecimento molecular do ATP.^{1,5,10}

Apesar do *hinge* ser conservado nas diversas PKs, essa região pode adotar diferentes conformações determinadas pela

alça de ativação (*A-loop*), na qual a flexibilidade do DFG é crítica para modular a atividade das cinases.^{1,11} Quando a PK está na sua conformação ativa, denomina-se *DFG-in*; enquanto que a conformação denominada *DFG-out* refere-se àquela inativa (Figura 4).^{10,11,13}

Como pode ser observado na Figura 4, a conformação ativa de uma proteína cinase (conformação *DFG-in*) é caracterizada pelo resíduo conservado de Asp do DFG apontado para dentro do sítio de ligação a ATP, enquanto o resíduo de Phe está contido num canal adjacente hidrofóbico. O Asp do DGF é responsável por coordenar os íons Mg^{2+} , capazes de interagir com os grupos fosfato do ATP.¹⁰

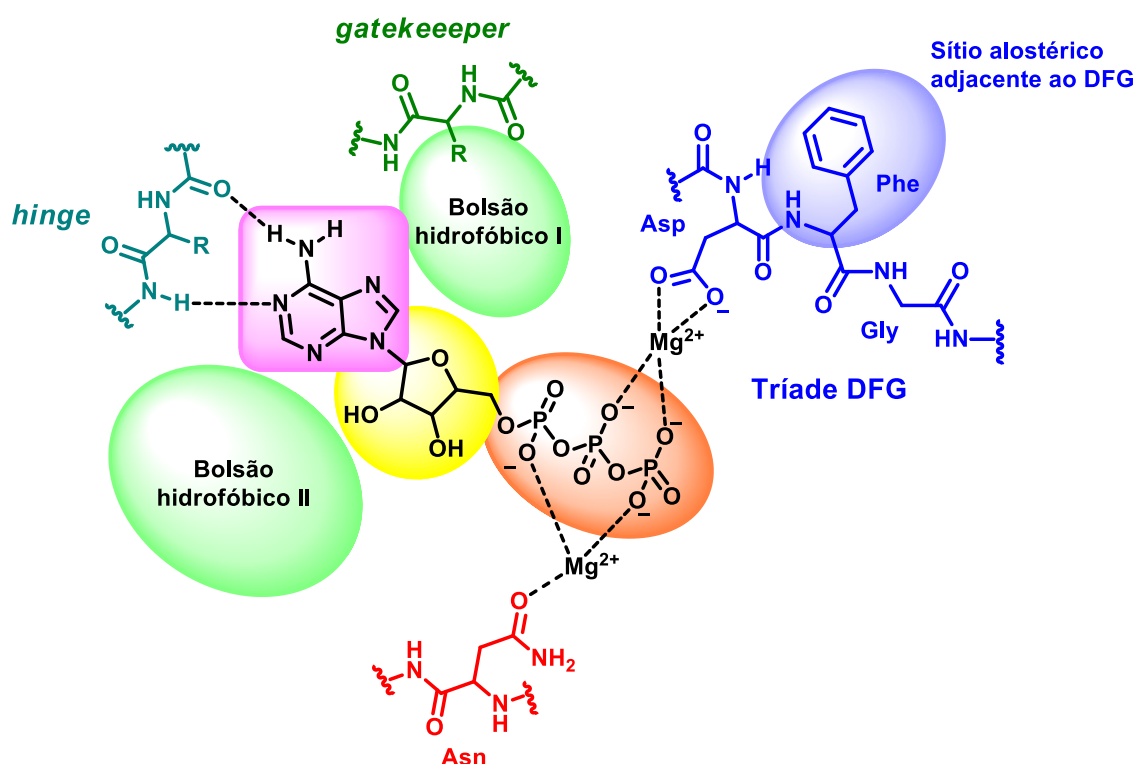


Figura 3. Representação do sítio de ligação do ATP: Em rosa é representada a região de ligação da adenina; em amarelo a região de ligação da ribose; em laranja a região de ligação dos fosfatos; em verde as regiões hidrofóbicas adjacentes e em azul o DFG e o sítio alostérico adjacente ao DFG.

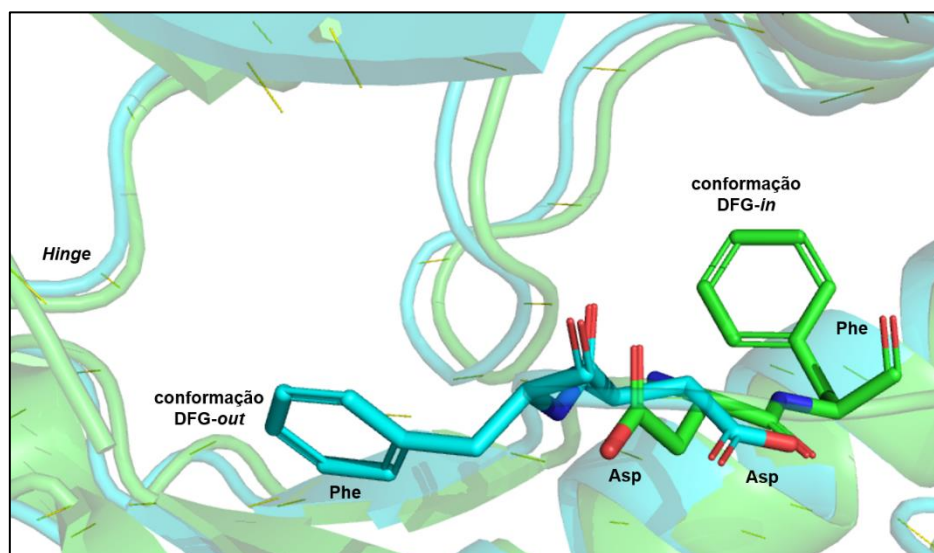


Figura 4. Sítio de ligação do ATP (*hinge*) e a região DFG (Asp-Phe-Gly). A proteína na conformação DFG-in na cor verde (Protein Data Bank - PDB: [3WZD](#))¹⁴ e a proteína na conformação DFG-out na cor azul (Protein Data Bank - PDB: [5EW3](#))¹²

No entanto, na conformação DFG-out da proteína cinase (Figura 4) há um rearranjo da alça de ativação. Nessa conformação, a cadeia lateral do Asp é direcionada para o lado oposto ao *hinge* e o grupo fenila da Phe é direcionado para o interior do sítio de ligação do ATP, expondo, por sua vez, mais um sítio hidrofóbico de interação, *i.e.* sítio alostérico

adjacente ao DFG (Figura 5). A posição do resíduo de Phe na conformação DFG-out impede estericamente, o ATP de se ligar ao *hinge*. Dessa forma, a fosforilação de substratos catalisada por cinases ocorre apenas quando a PK está na sua conformação DFG-in.^{5,10,11}

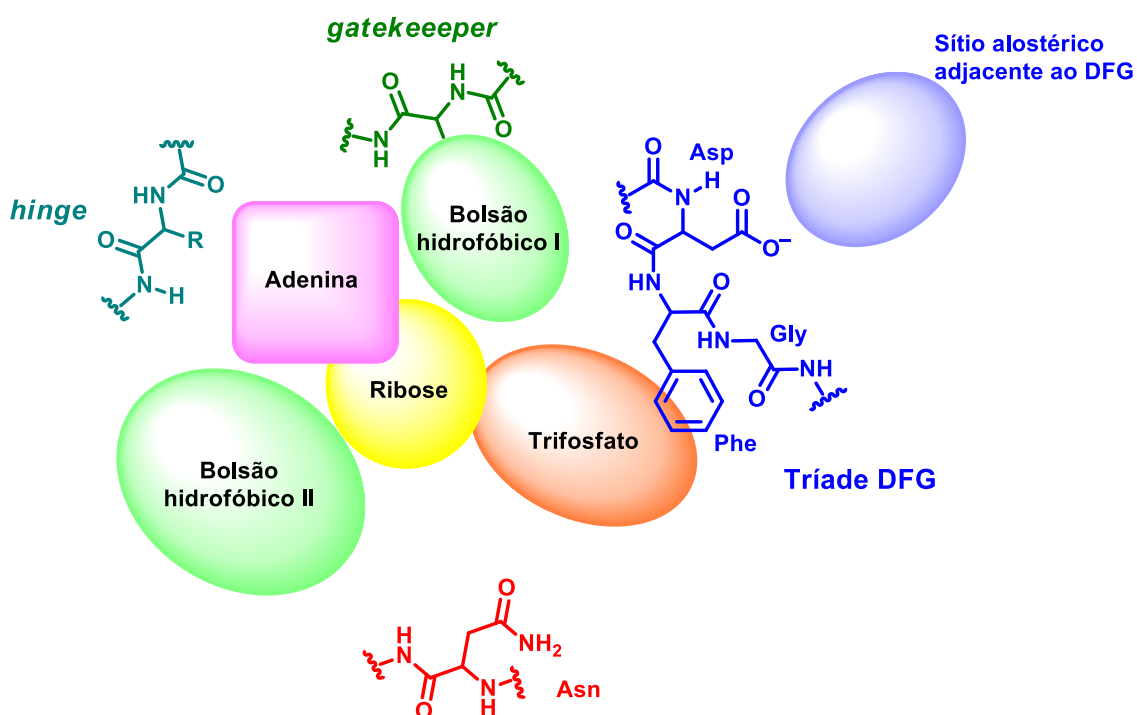


Figura 5. Representação do sítio de ligação do ATP na conformação DFG-out. Em rosa é representada a região de ligação da adenina; em amarelo a região de ligação da ribose; em laranja a região de ligação dos fosfatos; em verde as regiões hidrofóbicas adjacentes e em azul o DFG e o sítio alostérico adjacente ao DFG

Cabe ainda mencionar que, apesar da região de ligação do ATP e o DFG serem conservados nas proteínas cinases, os bolsões hidrofóbicos adjacentes ao *hinge* e o sítio alostérico adjacente ao DFG apresentam diversidade estrutural significativa^{1,15}, permitindo modular e explorar a seletividade e atividade de ligantes para as diferentes PKs.⁵

5. Função Fisiológica das Proteínas Cinases

As proteínas cinases desempenham funções primordiais em praticamente todas as etapas do ciclo celular, mediando diferentes vias de transdução de sinais e regulando os processos de proliferação e diferenciação celular, metabolismo e apoptose. O mecanismo modulador abrange fenômenos variados, podendo envolver desde alterações estruturais na proteína-alvo fosforilada até o controle transcricional.^{16,17}

Sendo responsáveis por modular diversas respostas celulares, qualquer alteração na atividade das proteínas cinases pode resultar em respostas celulares inadequadas.^{18,19} Diante disso, está bem estabelecido que a

desregulação ou superexpressão das PKs se relaciona à progressão de diversas doenças, *e.g.* câncer, diabetes, desordens autoimunes e/ou inflamatórias, neurológicas e cardiovasculares.^{5,20}

6. Proteínas Cinases como Alvo Terapêutico

As proteínas cinases destacam-se como alvos terapêuticos atrativos, muitos dos quais validados terapeuticamente, representando 22 % do genoma humano passíveis de modulação farmacológica.^{21,22}

Ademais, a prova de conceito para validação de novas proteínas cinases como alvos terapêuticos no tratamento de doenças é viável a nível bioquímico, celular e por meio do emprego de modelos animais.¹⁹

7. Inibidores das Proteínas Cinases

Inúmeros esforços de pesquisa têm sido extensivamente dedicados a modulação farmacológica da atividade de diferentes PKs relevantes como alvos terapêuticos no tratamento de doenças.

As duas principais abordagens utilizadas são o desenvolvimento de anticorpos monoclonais específicos capazes de se ligarem ao domínio extracelular das PKs receptoras e a identificação de micromoléculas capazes de atuarem como inibidoras da atividade catalítica no domínio cinase intracelular destas proteínas (Figura 6). Particularmente no caso das PKs não-receptoras, a modulação é exclusivamente realizada através de inibidores do domínio cinase.²²

7.1. Anticorpos monoclonais

Uma forma de controlar a atividade das PKs receptoras (*vide* item 3) é por meio do uso de anticorpos monoclonais (do inglês, *Monoclonal Antibodies* - mAbs) capazes de se ligarem ao domínio extracelular dessas cinases transmembranares, a exemplo das tirosinas cinases receptoras de fatores de crescimento. Em alguns casos, por outro lado, os mAbs podem ser direcionados para se ligarem ao ligante extracelular responsável pela ativação da PK receptora, *i.e.* ligação direta ao fator de crescimento.^{7,13}

De maneira geral, esses mAbs atuam por meio do bloqueio da interação ligante-receptor responsável pela ativação das PKs receptoras, inibindo, conseqüentemente, a sinalização celular induzida pelo ligante na superfície celular, *e.g.* um fator de crescimento. Adicionalmente, os complexos mAbs-receptor poderão ser internalizados e degradados, culminando na modulação negativa (*down-regulation*) das cinases em questão.^{7,22}

Podem ser mencionados como exemplos de anticorpos monoclonais aprovados pela agência regulatória norte-americana FDA (do inglês, *Food and Drug Administration*) o trastuzumabe (Herceptin® - Genentech Inc.), desenvolvido como inibidor da tirosina cinase receptora HER2 e aprovado no ano de 1998 para o tratamento de câncer de mama metastático HER2+²³; e o olaratumab (Lartruvo - Eli Lilly), um inibidor da tirosina cinase receptora PDGFR- α (do inglês, *platelet-derived growth factor receptor α*) aprovado no ano de 2016 com indicação terapêutica no tratamento de sarcoma.²⁴ Por sua vez, o bevacizumab (Avastin® - Roche) é um ligante direto do fator de crescimento VEGF (do inglês, *vascular endothelial growth factor*), o qual impede a ativação do seu receptor alvo VEGFR (do inglês, *vascular endothelial growth factor receptor*). Este mAbs foi aprovado no ano de 2004, sendo empregado no tratamento de câncer colorretal metastático, câncer de pulmão de células não pequenas, câncer de mama metastático e carcinoma metastático de células renais.²⁵

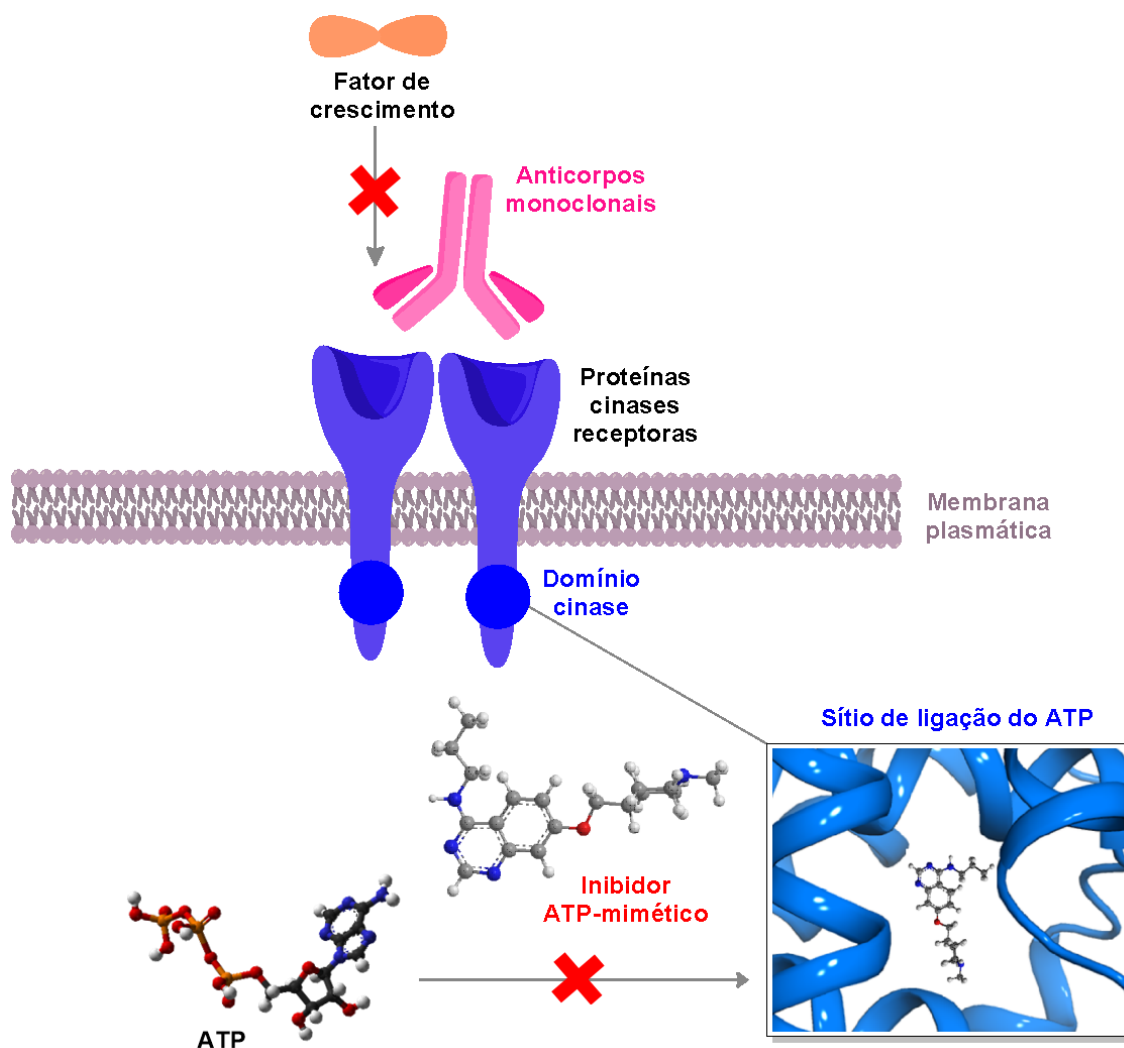


Figura 6. Abordagens mais comumente utilizadas na modulação farmacológica da atividade das proteínas cinases. Os anticorpos monoclonais podem modular a atividade das PKs receptoras por meio da ligação com o seu domínio extracelular. Por sua vez, no ambiente intracelular, micromoléculas ATP-miméticas podem modular a atividade catalítica das PKs ao se ligarem no sítio de ligação do ATP, localizado no domínio cinase intracelular. Em alguns casos, o domínio cinase pode ainda ser modulado por inibidores alostéricos (ATP não-competitivos)

Entretanto, embora o desenvolvimento de fármacos biotecnológicos, comumente denominados biofármacos, represente um avanço expressivo para o tratamento do câncer, a exemplo dos anticorpos monoclonais inibidores de tirosina cinases receptoras, estas terapias apresentam algumas limitações gerais associadas ao seu emprego na clínica, *e.g.* o alto custo de produção industrial, o qual reflete em preço comercial elevado; além da via de

administração injetável, restrita ao ambiente hospitalar.²⁶

Além disso, também tem sido observado aparecimento de resistência durante uso clínico dos biofármacos em questão, com reincidência e eventual progressão da doença, principalmente quando empregados individualmente. Deste modo, os anticorpos monoclonais inibidores de proteínas cinases são comumente administrados em

associação, visando à prevenção do desenvolvimento de resistência.^{5,7}

7.2. Inibidores da atividade catalítica no domínio cinase

A outra abordagem farmacológica empregada na regulação da atividade das PKs, baseia-se em moléculas ATP-miméticas ou alostéricas capazes de inibir a atividade catalítica no seu domínio cinase intracelular.²⁵ Diversos inibidores desse tipo estão disponíveis na clínica ou em desenvolvimento em estágios de ensaios clínicos. Até o presente momento, 38 substâncias que atuam como inibidoras de proteínas cinases através desse mecanismo foram aprovadas pela agência regulatória norte-americana FDA - *Food and Drug Administration*, cujas estruturas estão demonstradas na Figura 7.^{1, 28-37}

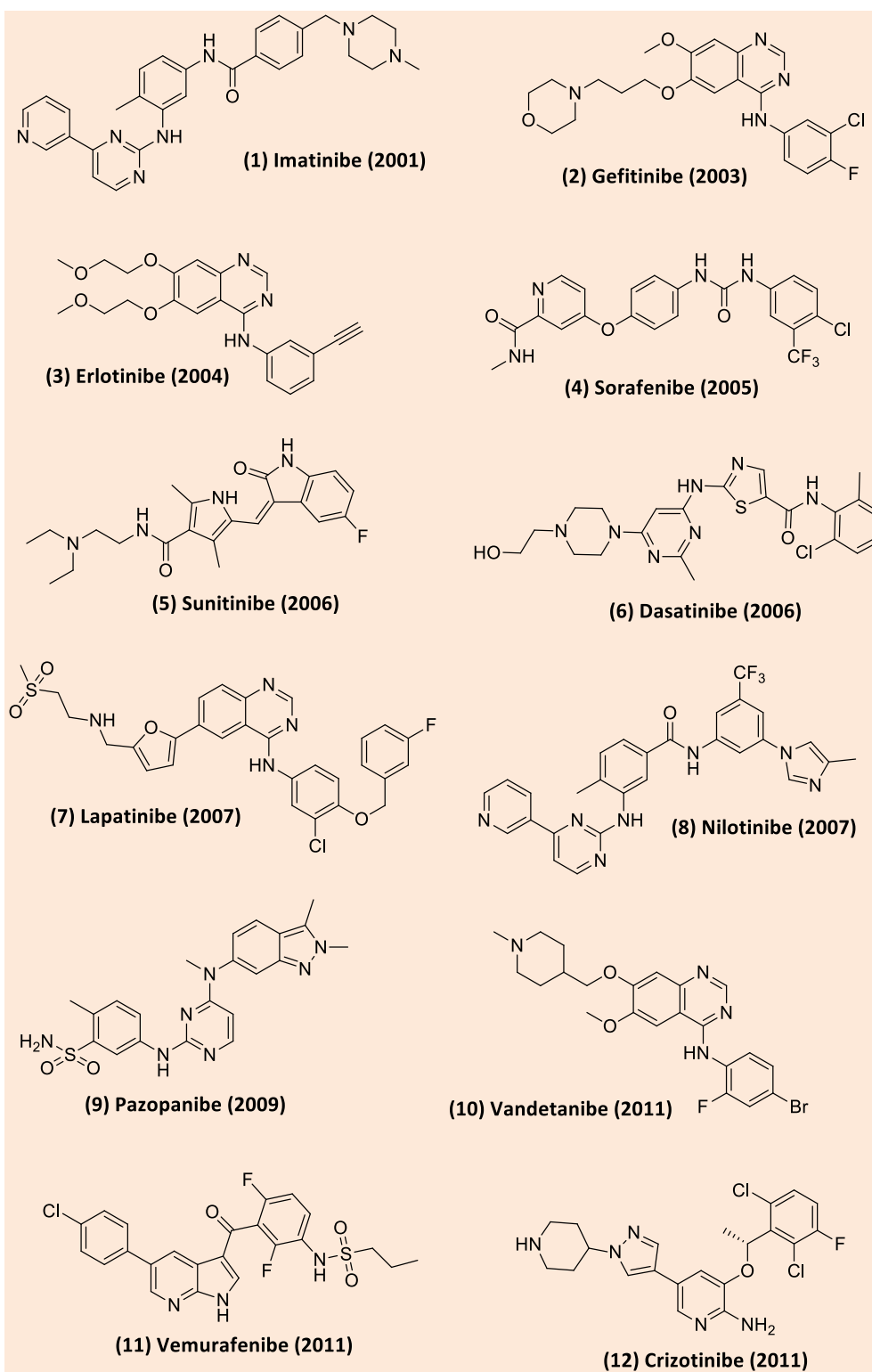
Cabe destacar que o mercado farmacêutico mundial desta classe de importantes fármacos observou expressivo crescimento nesta década, passando de *ca.* US\$ 28,1 bilhões em 2010, para US\$ 40,3 em 2016, o que representa um crescimento anual de 6,7 %, em média.³⁸

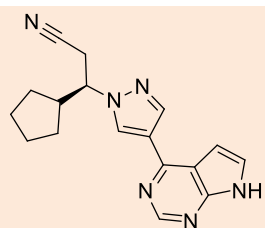
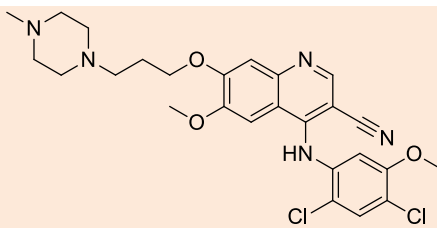
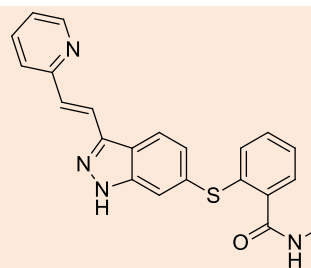
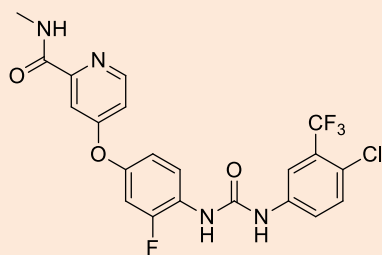
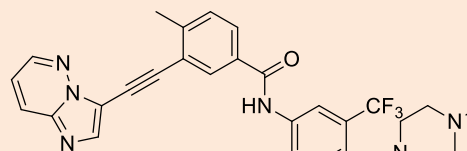
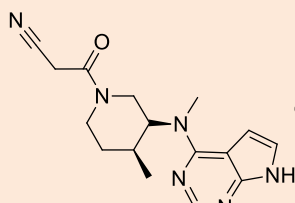
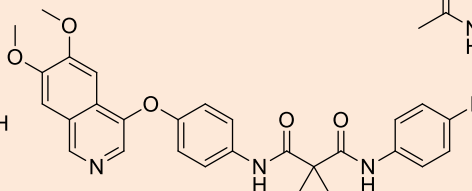
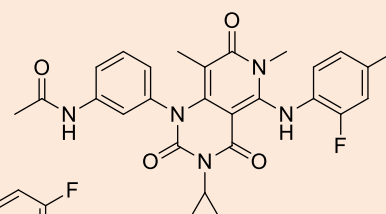
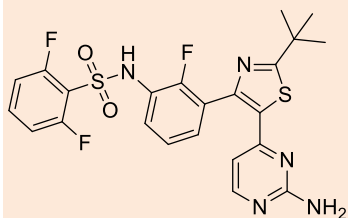
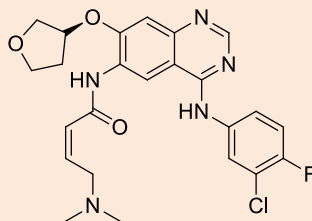
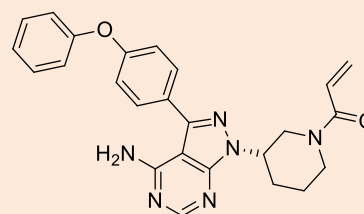
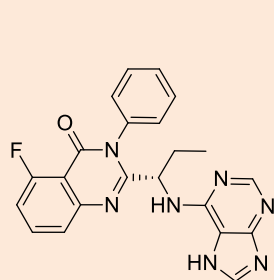
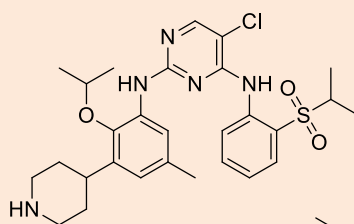
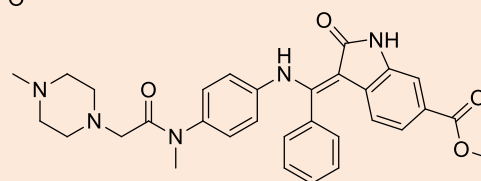
O primeiro inibidor de proteína cinase aprovado pelo FDA foi o imatinibe (**1**, Figura 7). Este fármaco foi aprovado em 2001, tendo sido inicialmente descoberto como inibidor da proteína Bcr-Abl (tirosina cinase resultante

dos genes Bcr e Abl). No entanto, atualmente é descrito também como inibidor de PDGFR- α e β e c-Kit. O imatinibe foi aprovado para uso clínico no tratamento de um raro tipo de câncer denominado leucemia mieloide crônica.³⁹

Assim como o imatinibe, outros 35 inibidores de PK apresentam suas aprovações clínicas relacionadas ao tratamento de diferentes tipos de câncer (*vide* Gráfico 1). No entanto, dois inibidores foram aprovados para aplicações clínicas não-oncogênicas,¹¹ *e.g.* tofacitinibe (**18**, Figura 7) e o nintedanibe (**26**, Figura 7). O tofacitinibe, inibidor de JAK-3, foi aprovado no ano de 2012 para o tratamento de artrite reumatoide⁴⁰ e em dezembro de 2017 foi aprovado em associação no tratamento de artrite psoriática.⁴¹ Já o nintedanibe (**26**, Figura 7), inibidor de VEGFR, PDGFR e FGFR (do inglês, *fibroblast growth factor receptor*), foi aprovado em 2014 para o tratamento de fibrose pulmonar idiopática.^{42,43}

Estas micromoléculas que atuam como inibidoras da atividade catalítica de proteínas cinases são classificadas de acordo com o modo de interação com o domínio cinase da proteína alvo, sendo divididas em inibidores reversíveis e irreversíveis.⁴⁴ Por sua vez, os inibidores reversíveis são sub classificados em tipos I, II, III ou IV de acordo com seu sítio de ligação e modo de interação no domínio cinase da proteína,^{1,15} conforme será detalhado a seguir.



**(13) Ruxolitinibe (2011)****(14) Bosutinibe (2012)****(15) Axitinibe (2012)****(16) Regorafenibe (2012)****(17) Ponatinibe (2012)****(18) Tofacitinibe (2012)****(19) Cabozantinibe (2012)****(20) Trametinibe (2013)****(21) Dabrafenibe (2013)****(22) Afatinibe (2013)****(23) Ibrutinibe (2013)****(24) Idelalisibe (2014)****(25) Ceritinibe (2014)****(26) Nintedanibe (2014)**

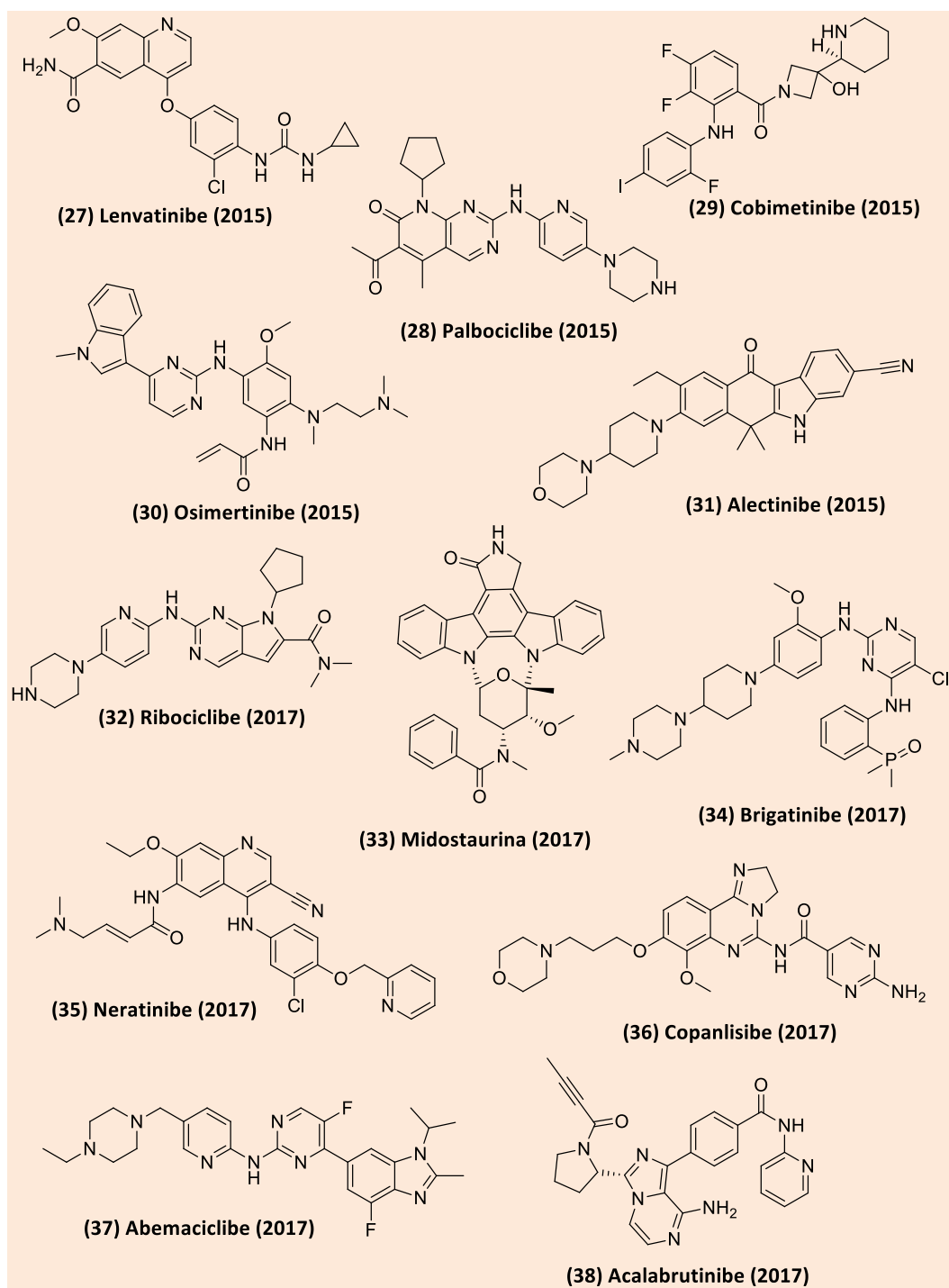


Figura 7. Estrutura dos inibidores do domínio cinase intracelular de PKs aprovados pelo FDA até 2017

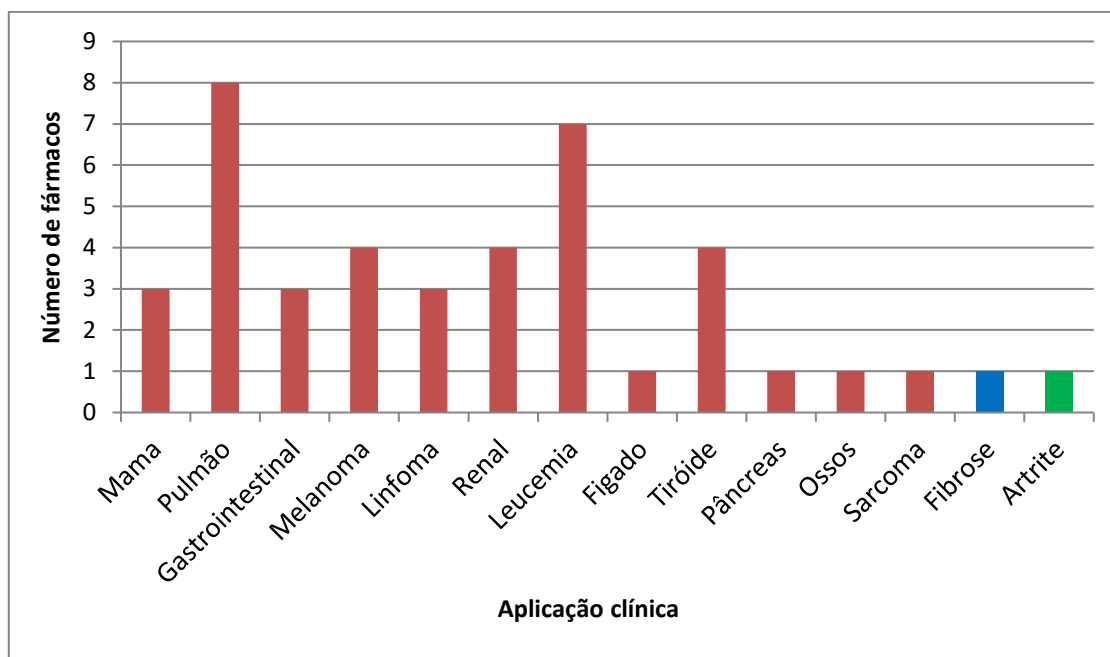


Gráfico 1. Relação das aplicações clínicas dos fármacos inibidores do domínio catalítico de PKs aprovados pelo FDA até o presente momento. Em cor laranja estão especificados os diferentes tipos de câncer para os quais estes inibidores foram aprovados. Em azul e verde, estão destacadas as duas aplicações clínicas não relacionadas ao tratamento do câncer. Cabe destacar que um único fármaco pode ter sido aprovado (em associação ou não) para mais de uma aplicação clínica.

7.2.1. Inibidores do tipo I

Inibidores do tipo I são também conhecidos como inibidores “ATP-competitivos”, pois interagem no sítio de ligação do ATP no domínio cinase da proteína em sua conformação ativa (conformação DFG-*in*). O sítio de reconhecimento molecular dos inibidores do tipo I é a região do *hinge*, mas os mesmos podem também explorar os canais hidrofóbicos adjacentes (Figura 3, bolsões hidrofóbicos I e II), visando um incremento de potência e uma maior seletividade. Ainda no que se refere ao quesito seletividade, os inibidores do tipo I comumente exploram a variação do tamanho, forma e polaridade do

resíduo *gatekeeper* entre as diferentes PKs.^{1,11,15} Como exemplo de inibidores de proteínas cinases do tipo I aprovados pelo FDA (Figura 8), tem-se o gefitinibe⁴⁵ (2), o sunitinibe⁴⁶ (5) e o dasatinibe⁴⁷ (6). O gefitinibe, inibidor de EGFR, foi aprovado para o tratamento de pacientes com câncer de pulmão de células não pequenas (do inglês, *non-small cell lung cancer* - NSCLC).⁴⁸ O sunitinibe, inibidor de VEGFR e PDGFR, foi aprovado para o tratamento de tumores estromais gastrointestinais e câncer de rim,⁴⁹ e, por sua vez, o dasatinibe, um inibidor de Bcr-Abl, foi aprovado para o tratamento de leucemia.⁵⁰

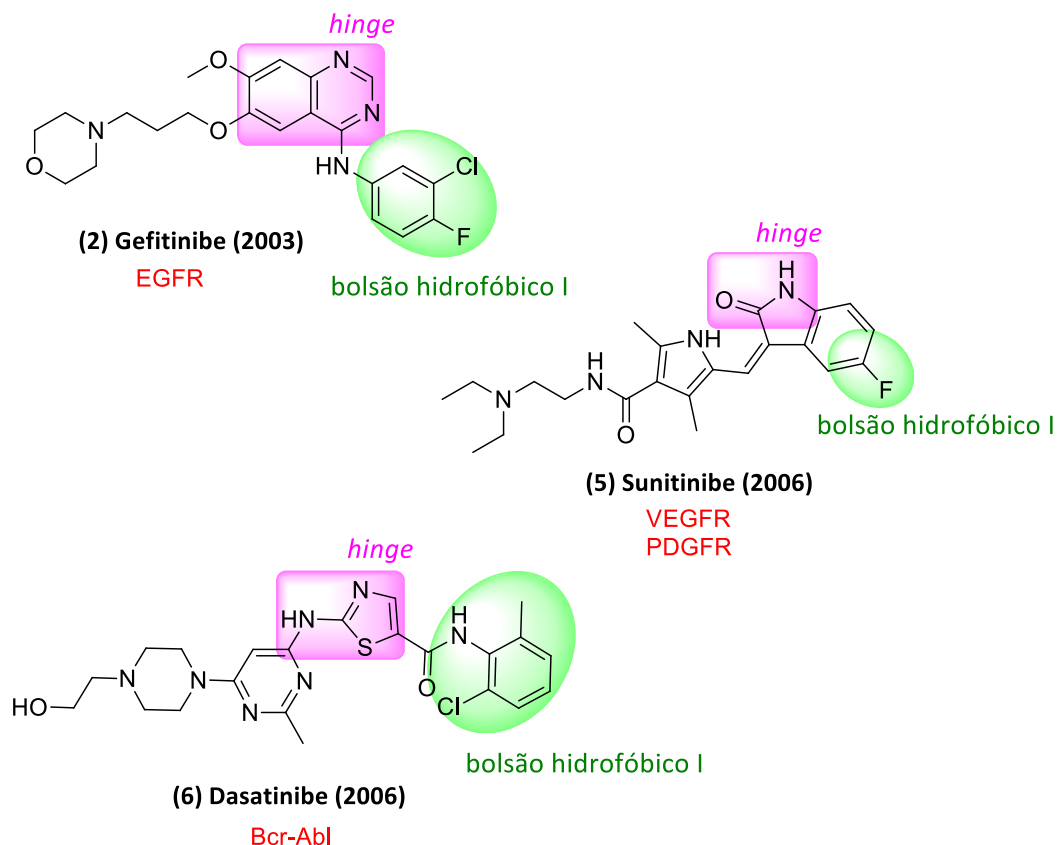


Figura 8. Exemplo de inibidores do tipo I aprovados pelo FDA e seus alvos terapêuticos principais: gefitinibe (PDB: [4I22](#))⁵¹, sunitinibe (PDB: [3G0E](#))⁵² e dasatinibe (PDB: [2GQG](#))⁵³. É representado o modo de ligação proposto para cada inibidor baseado nas estruturas cristalográficas depositadas no *Protein Data Bank* (PDB). Na cor em rosa são representados os grupos responsáveis pela ligação com o *hinge* e em verde as subunidades estruturais acomodadas no bolsão hidrofóbico

Uma subclassificação dos inibidores do tipo I são os inibidores do tipo 1½, que interagem no *hinge* das PKs em uma conformação *DFG-in*, porém se diferenciam dos inibidores do tipo I propriamente ditos no que se refere ao modo de interação.^{1,10,11} Como exemplo de inibidor de PK do tipo 1½ aprovado pelo FDA tem-se o e o lenvatinibe (**27**, Figura 9)⁵⁴. O lenvatinibe, inibidor de VEGFR, c-Kit, PDGFR e FGFR, foi aprovado inicialmente em 2015 para o tratamento de carcinoma papilífero da tireoide e, em 2016, foi também aprovado em associação no tratamento de carcinoma de células renais. A estrutura cristalográfica do complexo VEGFR-

2-levatinibe (PDB code: [3WZD](#))¹⁴ demonstrou que este inibidor se liga ao VEGFR-2 na sua conformação *DFG-in*. No entanto, devido ao reduzido volume associado ao anel ciclopropila, o mesmo consegue ser acomodado no sítio alostérico adjacente ao DFG, realizando uma interação hidrofóbica (CH- π) com o resíduo de fenilalanina da tríade Asp-Phe-Gly. Dessa forma, o lenvatinibe não se enquadra na definição clássica do inibidor do tipo I ou do tipo II, apresentando um modo de ligação distinto capaz de interagir com o sítio alostérico adjacente ao DFG do VEGFR-2 em uma conformação *DFG-in*.⁵⁴

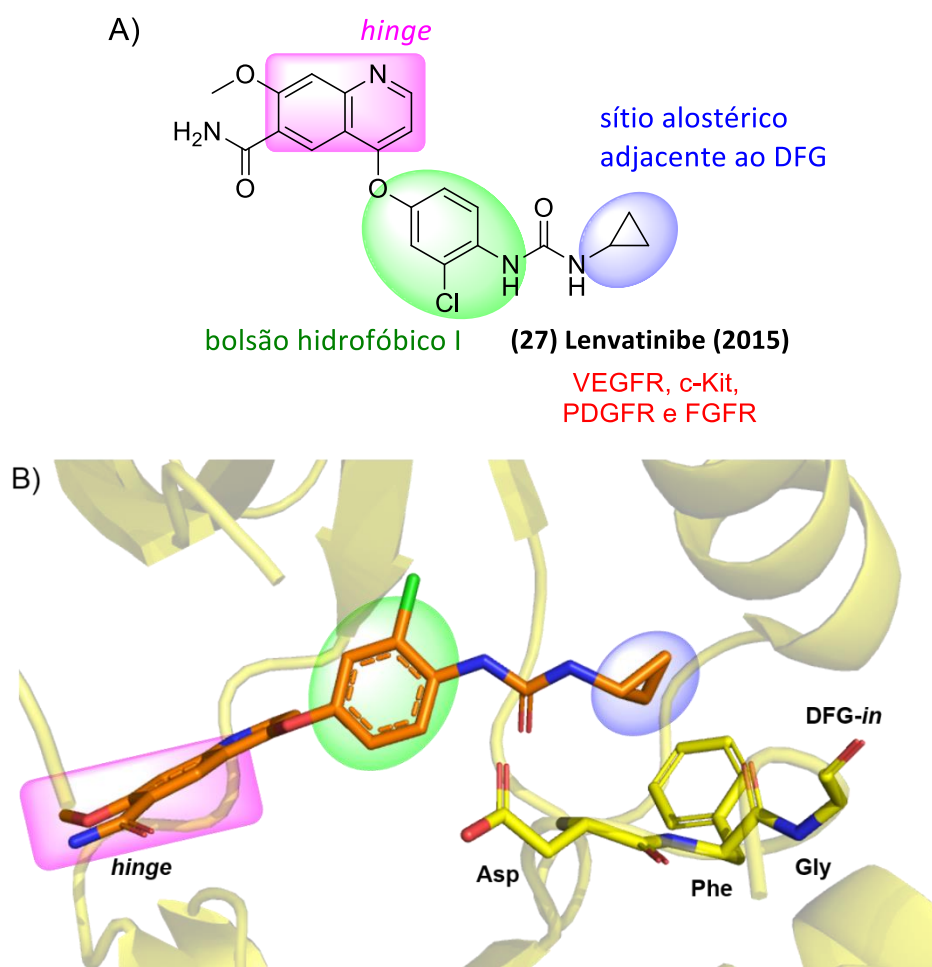


Figura 9. Exemplo de inibidor do tipo 1½ aprovado pelo FDA: lenvatinibe. A) Estrutura do lenvatinibe, sendo representado na cor em rosa o grupo responsável pela ligação com o *hinge*; em verde a subunidade estrutural acomodada no bolsão hidrofóbico, e em azul o grupo acomodado no sítio alostérico adjacente ao DFG; B) é representado o modo de ligação observado para o inibidor baseado na estrutura cristalográfica depositadas no *Protein Data Bank* (PDB: [3WZD](#))¹⁴, figura gerada no PyMol

7.2.2. Inibidores do tipo II

Os inibidores do tipo II, por sua vez, inibem a PK na conformação DGF-*out* inativa. O sítio do reconhecimento molecular desses inibidores é o *hinge*, podendo explorar os canais hidrofóbicos acessíveis, além de alcançarem o canal hidrofóbico adjacente ao DFG. Na conformação DFG-*out*, o resíduo de fenilalanina é direcionado para o *hinge*, possibilitando o acesso a canais hidrofóbicos inacessíveis na conformação DFG-*in*.^{11,10,55} Dessa forma pode-se obter melhores perfis de seletividade com os inibidores de tipo II frente

os inibidores do tipo I, uma vez que os aminoácidos dos canais hidrofóbicos adjacentes ao *hinge* são menos conservados do que aqueles presentes no sítio de ligação do ATP.^{5,54,55} Exemplos de inibidores de proteínas cinases do tipo II aprovados pela FDA são o sorafenibe⁵⁶ (**4**) e o nilotinibe^{57,58} (**8**), representados na Figura 10. O sorafenibe, inibidor de VEGFR, B-Raf, c-Kit, PDGFR e FTL3, foi aprovado para uso clínico no de 2005 para o tratamento de carcinoma de células renais e câncer de fígado⁵⁶ e em 2013 sua aprovação foi indicada ao tratamento de câncer de tireoide.⁵⁹ O nilotinibe, inibidor de Bcr-Abl cinase, foi aprovado no ano de 2007 para o

tratamento de leucemia mieloide crônica em pacientes resistentes ou intolerantes à terapia anterior com imatinibe.⁵⁸

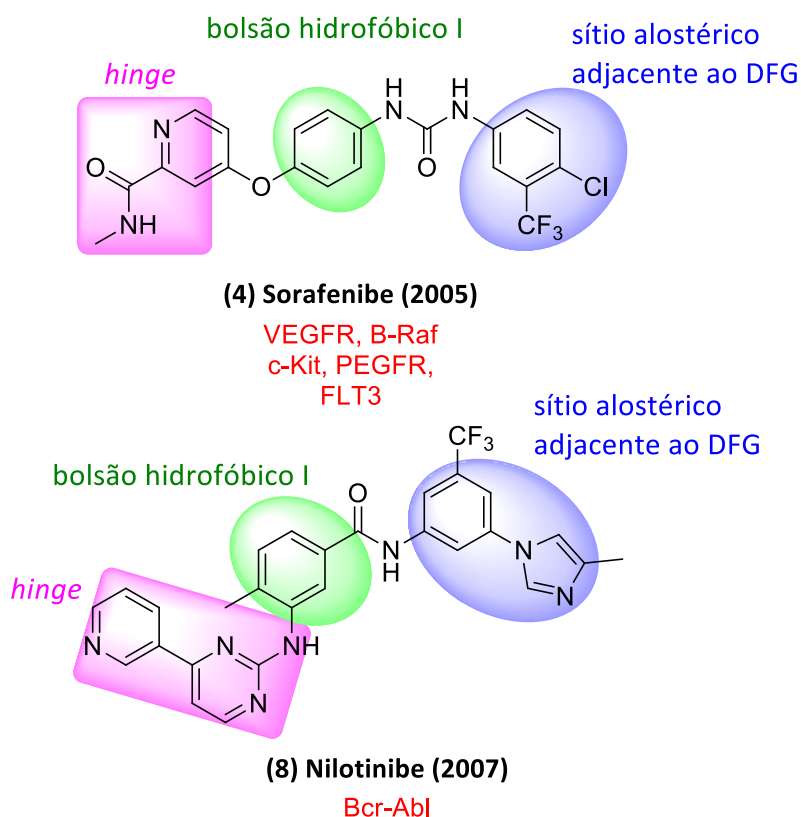


Figura 10. Exemplo de inibidores do tipo II aprovados pelo FDA e seus alvos terapêuticos principais: sorafenibe (PDB: [3WZE](#))⁶⁰ e nilotinibe (PDB: [3CS9](#))⁶¹. É representado o modo de ligação proposto para cada inibidor baseado nas estruturas cristalográficas depositadas no PDB. Na cor em rosa é representado o grupo responsável pela ligação com o *hinge*; em verde a subunidade estrutural acomodada no bolsão hidrofóbico, e em azul o grupo acomodado no sítio alostérico adjacente ao DFG

7.2.3. Inibidores do tipo III

No caso dos inibidores do tipo III, o reconhecimento molecular ocorre exclusivamente em um sítio alostérico adjacente ao *hinge*, sem nenhuma interação com o sítio de ligação do ATP. Esses inibidores apresentam vantagem de garantir maior seletividade, uma vez que se ligam a sítios alostéricos, além de serem considerados inibidores “ATP-não competitivos”, pois não apresentam nenhuma interação com o sítio de ligação do ATP. Apesar da região do *hinge* ser altamente conservada entre as PKs, os sítios alostéricos adjacentes podem possuir uma

grande diversidade estrutural, sendo este, portanto, um dos maiores desafios na busca de novos inibidores tipo III. Ademais, a habilidade destes sítios em modular a atividade catalítica da PK é, em geral, desconhecida até o momento em que o modulador alostérico é descrito. Por este motivo, moduladores alostéricos de PKs conhecidos até então foram identificados por estratégias de triagem robotizada.^{13,54,62}

O trametinibe⁶³ (**20**, Figura 7) e o cobimetinibe⁶⁴ (**29**, Figura 7) são os únicos inibidores de PK do tipo III aprovados pela FDA até o presente momento. Ambos inibidores têm como alvo terapêutico a cinase MEK1 e foram descobertos pela técnica de triagem

por HTS (do inglês, *High-throughput screening*). O trametinibe tem seu uso clínico relatado no tratamento de melanoma, sendo também aprovado em associação ao dabrafenibe (**21**, Figura 7) para o tratamento

de melanoma avançado.⁶⁵ O cobimetinibe foi aprovado para uso em associação com o vemurafenibe (**11**, Figura 7) no tratamento de melanoma avançado.⁶⁶

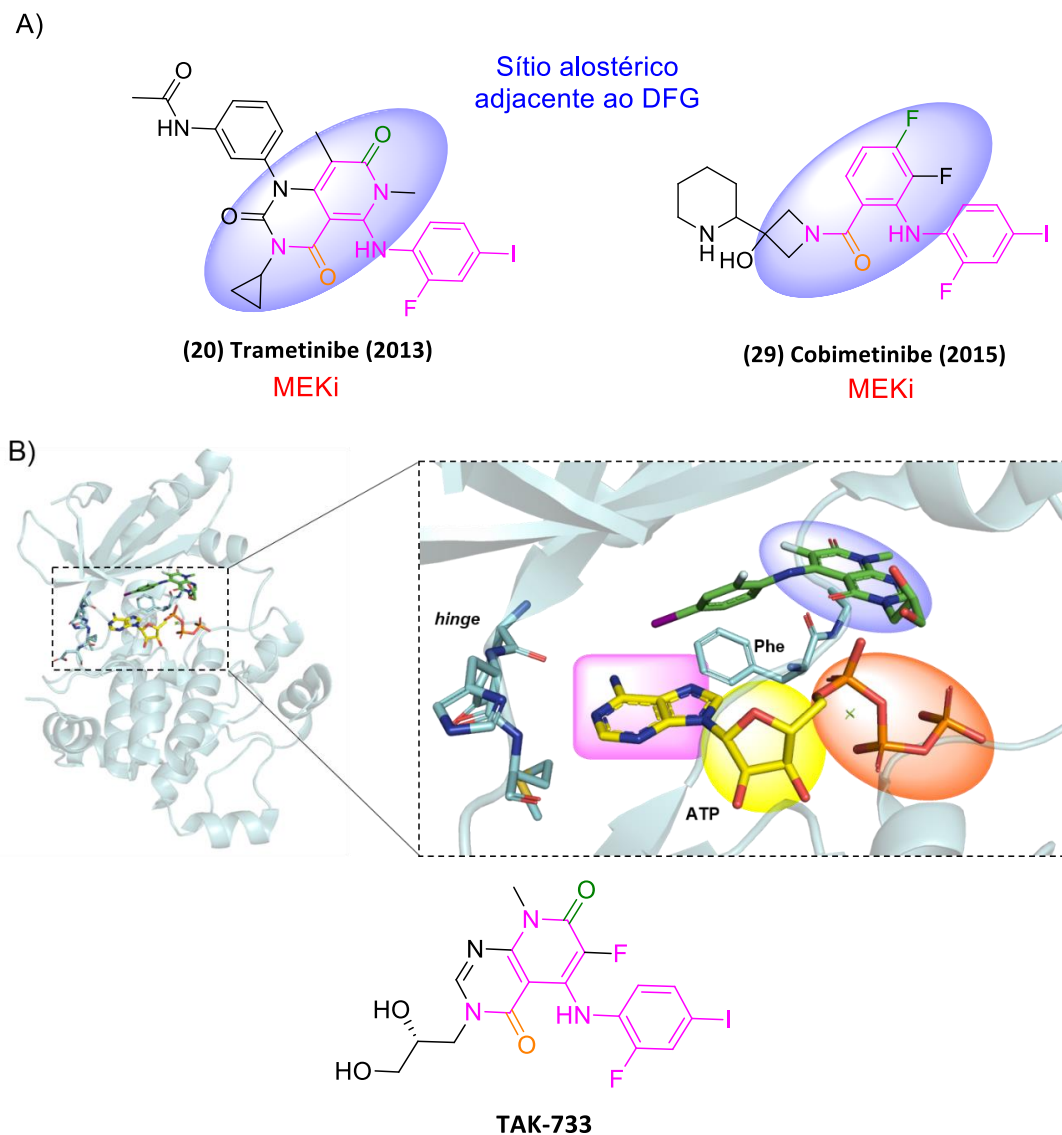


Figura 11. A) Exemplos de inibidores do tipo III aprovados pelo FDA: trametinibe e cobimetinibe; B) representado o modo de ligação proposto para o trametinibe baseado na estrutura cristalográfica depositada no PDB do seu análogo TAK-733 com a proteína cinase ativada por mitógeno - MAPK (PDB: [3PP1](#))⁶⁷ juntamente com o ATP. Na cor em rosa é representada a região da adenina; em amarelo a região da ribose; em laranja a região de ligação dos fosfatos e em azul o sítio alostérico adjacente ao DFG

7.2.4. Inibidores do tipo IV

A categoria dos inibidores do tipo IV se refere àqueles inibidores alostéricos cujo reconhecimento molecular ocorreria num

sítio distante do *hinge*, o qual não apresentasse nenhum contato espacial com o sítio de ligação do ATP.^{1,11,54} Não há inibidores de PKs do tipo IV aprovados pelo FDA até o presente momento.^{1,15}

7.2.5. Inibidores irreversíveis

Além destes inibidores reversíveis, há outra classe de inibidores denominados irreversíveis, capazes de interagir com a proteína alvo através da formação de ligação covalente. Esses inibidores são planejados com fragmentos eletrofílicos presentes em suas estruturas, sendo responsáveis por interagirem com um resíduo nucleofílico de

cisteína no *hinge* das PKs^{1,11,20,27} Como exemplos de inibidores covalentes de PKs aprovados pelo FDA têm-se o afatinibe⁶⁸ (**22**), o ibrutinibe⁶⁹ (**23**) e o osimertinibe^{70,71} (**30**), demonstrados na Figura 12. O afatinibe, um inibidor de HER2 e EGFR selvagem ou com as mutações T790M e/ou L858R, foi aprovado em 2013 para uso clínico no tratamento de NSCLC.⁶⁸ Neste mesmo ano, o ibrutinibe, inibidor de BTK (do inglês, *bruton's tyrosine kinase*), foi aprovado para o tratamento de linfomas, leucemia mieloide e leucemia linfoblástica aguda.⁶⁹ Mais recentemente, no final do ano de 2015, o osimertinibe, um inibidor seletivo de EGFR mutante T790M, foi aprovado para o tratamento de NSCLC em pacientes não responsivos ao tratamento com fármacos de primeira e segunda geração.³⁰

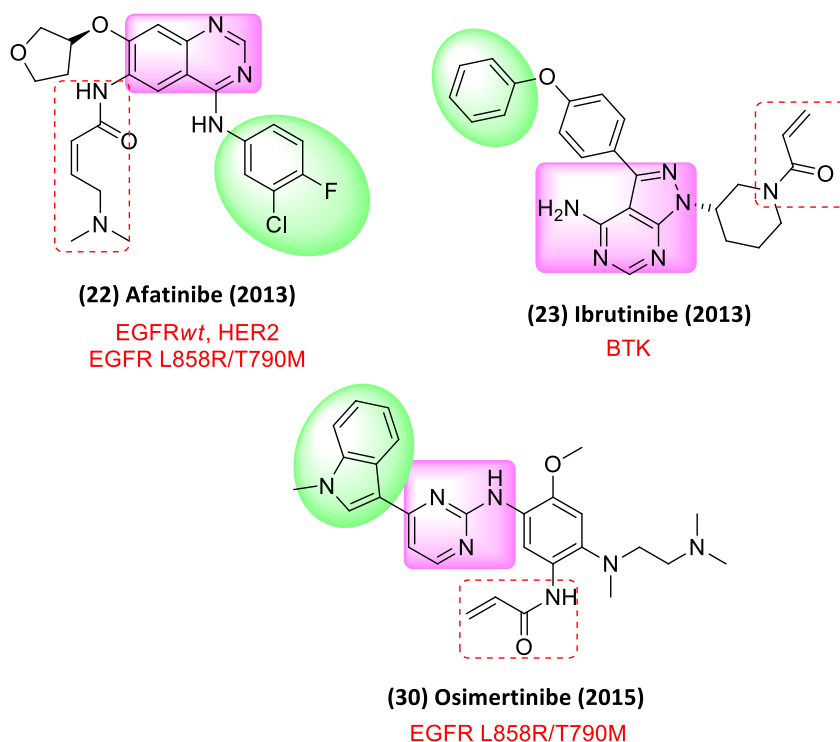


Figura 12. Exemplo de inibidores covalentes aprovados pelo FDA: afatinibe (PDB: [4G5J](#))⁷², ibrutinibe (PDB: [5P9J](#))⁷³ e osimertinibe (PDB: [4ZAU](#))⁷⁴. É representado o modo de ligação proposto para cada inibidor, baseado nas estruturas cristalográficas depositadas no PDB. Na cor em rosa os grupos responsáveis pela ligação com o *hinge* e em verde as subunidades estruturais acomodadas no bolsão hidrofóbico. Os grupos eletrofílicos destacados na linha tracejada vermelha são responsáveis pela formação de ligação covalente com resíduos de cisteína nucleofílicos presentes nas PKs

8. Considerações Finais

As proteínas cinases são enzimas que promovem a fosforilação de proteínas-alvo responsáveis por mediar uma série de respostas celulares. A desregulação ou superexpressão dessas proteínas é relatada no estabelecimento e progressão de diferentes doenças, *e.g.* câncer, doenças inflamatórias e diabetes. O controle da atividade catalítica das PKs já é considerado uma estratégia terapêutica validada e promissora.⁷⁵

Esforços científicos foram extensivamente dedicados nas últimas décadas para permitir a modulação farmacológica da atividade das proteínas cinases. Uma das abordagens farmacológicas amplamente empregadas para este fim baseia-se em micromoléculas capazes de inibir o domínio cinase catalítico intracelular.

Atualmente, são relatados 38 inibidores aprovados pela FDA, além de diversos protótipos em fase de estudos clínicos, apresentando diferentes padrões estruturais e perfis farmacológicos, acompanhados por um número crescente de publicações sobre as proteínas cinases como alvos terapêuticos no tratamento de doenças, principalmente o câncer.

Nesse contexto, considerando-se a importância das PKs para o estabelecimento de diferentes doenças e levando-se em conta que 22 % das proteínas codificadas pelo genoma humano passíveis de modulação farmacológica correspondem a PKs, a busca por novos inibidores dessas proteínas é considerada um mercado oportuno e desafiador. Neste âmbito, as oportunidades caminham junto com os riscos e ainda há muito a ser explorado na busca pelo ajuste adequado entre a eficácia e a seletividade, além de ser necessário minimizar o potencial desenvolvimento de resistência ao tratamento durante o uso clínico.

Desde a aprovação do imatinibe pelo FDA em 2001, como a primeira micromolécula

inibidora de PK, o número de fármacos atuando por este mecanismo tem aumentado a cada ano, com um recorde de sete novas aprovações em 2017. Os próximos anos certamente prometem ainda mais avanços e o surgimento de novos desafios a serem respondidos.

Referências Bibliográficas

- ¹ Wu, P.; Nielsen, T. E.; Clausen, M. H. FDA-approved small-molecule kinase inhibitors. *Trends in Pharmacological Sciences* **2015**, *36*, 422. [CrossRef] [PubMed]
- ² Manning, G.; Whyte, D. B.; Martinez, R.; Hunter, T.; Sudarsanam, T. The Protein Kinase Complement of the Human Genome. *Science* **2002**, *298*, 1912. [CrossRef] [PubMed]
- ³ Krebs, E. G.; Fischer, E. H. The phosphorylase b to a converting enzyme of rabbit skeletal muscle. *Biochimica et Biophysica Acta* **1956**, *20*, 150. [CrossRef] [PubMed]
- ⁴ NOBEL PRIZES - The nobel prize in physiology or medicine 1992. Disponível em: <https://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1992>. Acesso em: 20 setembro 2017.
- ⁵ Silva, B. V.; Horta, B. A. C.; Alencastro, R. B.; Pinto, A. C. Proteínas quinases: características estruturais e inibidores químicos. *Química Nova* **2009**, *32*, 453. [CrossRef]
- ⁶ Azevedo, T.; Rodrigues, F.; Martins, T.; Lemos, M. C.; Cunha, N.; Valido, F.; Gervásio, H.; Teles, A. C. Hipotireoidismo induzido pelos inibidores da tirosina-cinase. *Revista Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo* **2013**, *8*, 66. [CrossRef]
- ⁷ Avila, C. M.; Romeiro, N. C. Proteínas Tirocinases Quinases: Desafios do Desenvolvimento de Fármacos para a Terapia do Câncer. *Revista Virtual de Química* **2010**, *2*, 59. [CrossRef]
- ⁸ Oxford Dictionary of English Etymology Online - 2003. Disponível em:

- <www.oxfordreference.com>. Acesso em: 09 setembro 2017. [CrossRef]
- ⁹ Hamilton, T. A.; *Protein Kinase - Encyclopedia of Immunology*, 2nd ed., Academic Press: Cambridge, 1998.
- ¹⁰ Matthews, D. J.; Gerritsen, M. E.; *Targeting protein kinases for cancer therapy*, John Wiley & Sons: Nova Jersey, 2011. [CrossRef]
- ¹¹ Fabbro, D.; Cowan-Jacob, S. W.; Moebitz, H. Ten things you should know about protein kinases: IUPHAR Review 14. *British Journal of Pharmacology* **2015**, *172*, 2675. [CrossRef] [PubMed]
- ¹² Stark, W.; Goepfert, A. 5EW3 - Human Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2 (KDR) Kinase Domain in complex with AAL993. Disponível em: <<https://www.rcsb.org/structure/5ew3>>. Acesso em: 05 outubro 2017.
- ¹³ Müller, S.; Chaikuad, A.; Gray, N. S.; Knapp, S. The ins and outs of selective kinase inhibitor development. *Nature Chemical Biology* **2015**, *11*, 818. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁴ Okamoto, K.; Ikemori_Kawada, M.; Inoue, A.; Matsui, J. 3WZD - KDR in complex with ligand lenvatinib. Disponível em <<https://www.rcsb.org/structure/3wzd>>. Acesso em: 05 outubro 2017.
- ¹⁵ Wu, P.; Nielsen, T. E.; Clausen, M. H. Small-molecule kinase inhibitors: an analysis of FDA-approved drugs. *Drug Discovery Today* **2016**, *21*, 1. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁶ Humphrey, S. J.; James, D. E.; Mann, M. Protein Phosphorylation: A Major Switch Mechanism for Metabolic Regulation. *Trends in Endocrinology & Metabolism* **2015**, *26*, 676. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁷ Duan, G.; Walthe, D. The Roles of Post-translational Modifications in the Context of Protein Interaction Networks. *PLOS Computational Biology* **2015**, *18*, 1. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁸ Cohen, P. The development and therapeutic potential of protein kinase inhibitors. *Current Opinion in Chemical Biology* **1999**, *3*, 459. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁹ Traxler, P., Bold, G., Buchdunger, E., Caravatti, G., Furet, P., Manley, P., O'reilly, T., Wood, J. & Zimmermann, J. Tyrosine kinase inhibitors: From rational design to clinical trials. *Medicinal Research Reviews* **2001**, *21*, 499. [CrossRef] [PubMed]
- ²⁰ Laufer, S. A.; Domeyer, D. M.; Scior, T. R. F.; Albrecht, W.; Hauser, D. R. J. Synthesis and biological testing of purine derivatives as potential ATP-competitive kinase inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry* **2005**, *48*, 710. [CrossRef] [PubMed]
- ²¹ Broekman, F., Giovannetti, E., Peters, G. J. Tyrosine kinase inhibitors: Multi-target or single target? *World Journal of Clinical Oncology* **2011**, *2*, 80. [CrossRef] [PubMed]
- ²² Arora, A.; Scholar, E. M. Role of tyrosine kinase inhibitors in cancer therapy. *Journal of Pharmacology Experimental Therapeutics* **2005**, *315*, 971. [CrossRef] [PubMed]
- ²³ Kirsch, D. G.; Hochberg, F. H. Targeting HER2 in brain metastases from breast cancer. *Clinical Cancer Research* **2003**, *9*, 5435. [PubMed] [Link]
- ²⁴ Olaratumab, Food and Drug Administration – FDA. Disponível em: <<https://www.fda.gov/Drugs/InformationOnDrugs/ApprovedDrugs/ucm526087.htm>> Acesso em: 13 outubro 2017.
- ²⁵ Ferrara N.; Hillan K.J.; Novotny, W. Bevacizumab (Avastin), a humanized anti-VEGF monoclonal antibody for cancer therapy. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **2005**, *2*, 328. [CrossRef] [PubMed]
- ²⁶ Barbosa, M. L. C.; Lima, L. M.; Tesch, R.; Sant'anna, C. M. R.; Totzke, F.; Kubbutat, M. H. G.; Schachtele, C.; Laufer, S. A.; Barreiro, E. J. Novel 2-Chloro-4-Anilino-Quinazoline Derivatives As EGFR And VEGFR-2 Dual Inhibitors, *European Journal of Medicinal Chemistry* **2014**, *71*, 1. [CrossRef] [PubMed]
- ²⁷ Zhang, J.; Yang, P. L.; Gray, N. S. Targeting cancer with small molecule kinase inhibitors. *Nature Reviews: Cancer* **2009**, *9*, 28. [CrossRef] [PubMed]

- ²⁸ Zhang, J.; Salminen A.; Yang, X.; Luo, Y.; Wu, Q.; White, M.; Greenhaw, J.; Ren, L.; Bryant, M.; Salminen, W.; Papoian, T.; Mattes, W.; Shi, Q. Effects of 31 FDA approved small-molecule kinase inhibitors on isolated rat liver mitochondria. *Archives of Toxicology* **2017**, *1*, 2921. [CrossRef] [PubMed]
- ²⁹ Ribociclib, Food and Drug Administration – FDA. Disponível em: <<https://www.fda.gov/Drugs/InformationOnDrugs/ApprovedDrugs/ucm546438.htm>>. Acesso em: 17 outubro 2017.
- ³⁰ Osimertinib, Food and Drug Administration – FDA. Disponível em: <<https://www.fda.gov/Drugs/InformationOnDrugs/ApprovedDrugs/ucm549683.htm>>. Acesso em: 17 outubro 2017.
- ³¹ Alectinib, Food and Drug Administration – FDA. Disponível em: <<https://www.fda.gov/drugs/informationondrugs/approveddrugs/ucm584082.htm>>. Acesso em: 17 dezembro 2017.
- ³² Midostaurin, Food and Drug Administration – FDA. Disponível em: <<https://www.fda.gov/drugs/informationondrugs/approveddrugs/ucm555756.htm>>. Acesso em: 12 dezembro 2017.
- ³³ Brigatinib, Food and Drug Administration – FDA. Disponível em: <<https://www.fda.gov/drugs/informationondrugs/approveddrugs/ucm555841.htm>> Acesso em: 12 dezembro 2017.
- ³⁴ Neratinib, Food and Drug Administration – FDA. Disponível em: <<https://www.fda.gov/drugs/informationondrugs/approveddrugs/ucm567259.htm>> Acesso em: 12 dezembro 2017.
- ³⁵ Copanlisib, Food and Drug Administration – FDA. Disponível em: <<https://www.fda.gov/drugs/informationondrugs/approveddrugs/ucm576098.htm>> Acesso em: 12 dezembro 2017.
- ³⁶ Abemaciclib, Food and Drug Administration – FDA. Disponível em: <<https://www.fda.gov/drugs/informationondrugs/approveddrugs/ucm578081.htm>>. Acesso em: 12 dezembro 2017.
- ³⁷ Acalabrutinib, Food and Drug Administration – FDA. Disponível em: <<https://www.fda.gov/drugs/informationondrugs/approveddrugs/ucm583106.htm>>. Acesso em: 15 dezembro 2017.
- ³⁸ Kinase Inhibitors: Global Markets - Report Highlights. Disponível em: <<https://www.bccresearch.com/market-research/biotechnology/kinase-inhibitors-global-markets-bio053c.html>>. Acesso em: 20 fevereiro 2018.
- ³⁹ Gleevec (Imatinib Mesylate), Food and Drug Administration – FDA. Disponível em: <https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2001/21335_Gleevec.cfm>. Acesso em: 11 janeiro 2018.
- ⁴⁰ XELJANZ® (tofacitinib), Food and Drug Administration – FDA. Disponível em: <https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2016/208246s000lbl.pdf>. Acesso em: 11 janeiro 2018.
- ⁴¹ Wang, T. S.; Tsai, T. F. Tofacitinib in psoriatic arthritis. *Immunotherapy* **2017**, *9*, 1153. [CrossRef] [PubMed]
- ⁴² Tepede, A.; Yogaratnam, D. Nintedanib for Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *Journal of Pharmacy Practice* **2017**, *1*, 1. [CrossRef] [PubMed]
- ⁴³ Nintedanib capsules, Food and Drug Administration – FDA. Disponível em: <https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2014/205832Orig1s000TOC.cfm>. Acesso em: 3 dezembro 2017.
- ⁴⁴ Blanc, J.; Geney, R.; Menet, C. Type II Kinase Inhibitors: As opportunity in Cancer for Rational Design. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry* **2013**, *13*, 1. [CrossRef] [PubMed]
- ⁴⁵ Barker, A. J.; Gibson, K. H.; Grundy, W.; Godfrey, A. A.; Barlow, J. J.; Healy, M. P. Studies leading to the identification of ZD1839 (IRESSA): an orally active, selective epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor targeted to the treatment of cancer. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2001**, *11*, 1911. [CrossRef] [PubMed]

- ⁴⁶ Sun, L.; Liang, C.; Shirazian, S.; Zhou, Y.; Miller, T.; Cui, J. et al. Discovery of 5-[5-fluoro-2-oxo-1,2-dihydroindol-(3Z)-ylidenemethyl]-2,4-dimethyl-1H-pyrrole-3 carboxylic acid(2-diethylaminoethyl)amide, a novel tyrosine kinase inhibitor targeting vascular endothelial and platelet-derived growth factor receptor tyrosine kinase. *Journal of Medicinal Chemistry* **2003**, *46*, 1116. [CrossRef] [PubMed]
- ⁴⁷ Lombardo, L. J.; Lee, F. Y.; Chen, P.; Norris, D.; Barrish, J. C.; Behnia, K. Discovery of N-(2-chloro-6-methyl-phenyl)-2-(6-(4-(2-hydroxyethyl)-piperazin-1-yl)-2-methylpyrimidin-4-ylamino)thiazole-5-carboxamide (BMS-354825), a dual Src/Abl kinase inhibitor with potent antitumor activity in preclinical assays. *Journal of Medicinal Chemistry* **2004**, *47*, 6658. [CrossRef] [PubMed]
- ⁴⁸ Kazandjian, D.; Blumenthal, G.M.; Yuan, W.; He, K.; Keegan, P.; Pazdur, R. FDA Approval of Gefitinib for the Treatment of Patients with Metastatic EGFR Mutation-Positive Non-Small Cell Lung Cancer. *Clinical Cancer Research* **2016**, *22*, 1307. [CrossRef] [PubMed]
- ⁴⁹ FDA approves sunitinib malate for adjuvant treatment of renal cell carcinoma, Food and Drug Administration – FDA. Disponível em: <<https://www.fda.gov/Drugs/InformationOnDrugs/ApprovedDrugs/ucm585686.htm>>. Acesso em: 28 dezembro 2017.
- ⁵⁰ Dasatinib, Food and Drug Administration – FDA. Disponível em: <https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2006/021986_022072_SprycelTOC.cfm>. Acesso em: 28 dezembro 2017.
- ⁵¹ Gajiwala, K.S.; Feng, J.; Ferre, R.; Ryan, K.; Brodsky, O.; Stewart, A. 4I22 - Structure of the monomeric (V948R) gefitinib/erlotinib resistant double mutant (L858R+T790M) EGFR kinase domain co-crystallized with gefitinib. Disponível em: <<https://www.rcsb.org/structure/4I22>>. Acesso em: 2 dezembro 2017.
- ⁵² Gajiwala, K.S.; Wu, J.C.; Lunney, E.A.; Gemetri, G.D. 3G0E - KIT kinase domain in complex with sunitinib. Disponível em: <<https://www.rcsb.org/structure/3g0e>>. Acesso em: 4 janeiro 2018.
- ⁵³ Klei, H.E. 2GQG - X-ray Crystal Structure of Dasatinib (BMS-354825) Bound to Activated ABL Kinase Domain. Disponível em: <<http://www.rcsb.org/structure/2GQG>>. Acesso em: 4 janeiro 2018.
- ⁵⁴ Roskoski, R. Classification of small molecule protein kinase inhibitors based upon the structures of their drug-enzyme complexes. *Pharmacological Research* **2016**, *103*, 26. [CrossRef] [PubMed]
- ⁵⁵ Liu, Y.; Gray, N. S. Rational design of inhibitors that bind to inactive kinase conformations. *Nature Chemical Biology* **2006**, *2*, 358. [CrossRef] [PubMed]
- ⁵⁶ NEXAVAR (sorafenib), Food and Drug Administration – FDA. Disponível em: <https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2010/021923s008s009lbl.pdf>. Acesso em: 22 dezembro 2017.
- ⁵⁷ Weisberg, E.; Manley, P.W.; Breitenstein, W.; Bruggen, J.; Cowan-Jacob, S. W.; Ray. Characterization of AMN107, a selective inhibitor of native and mutant Bcr-Abl. *Cancer Cell* **2005**, *7*, 129. [CrossRef] [PubMed]
- ⁵⁸ Tassigna® (nilotinib), Food and Drug Administration – FDA. Disponível em: <https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2007/022068lbl.pdf>. Acesso em: 20 dezembro 2017.
- ⁵⁹ White, P. T.; Cohen, M. S. The discovery and development of sorafenib for the treatment of thyroid cancer. *Expert Opinion on Drug Discovery* **2015**, *10*, 427. [CrossRef] [PubMed]
- ⁶⁰ Okamoto, K.; Ikemori-Kawada, M.; Inoue, A.; Matsui, J. 3WZE - KDR in complex with ligand sorafenib. Disponível em: <<https://www.rcsb.org/structure/3wze>>. Acesso em: 5 janeiro 2018.
- ⁶¹ Cowan-Jacob, S.W.; Fendrich, G.; Manley, P.; Liebetanz, J.; Fabbro, D. 3CS9 - Human ABL kinase in complex with nilotinib. Disponível em: <<https://www.rcsb.org/structure/3cs9>>. Acesso em: 5 janeiro 2018.

- ⁶² Fedorov, O.; Müller, S.; Knapp, S. The (un)targeted cancer kinome. *Nature Chemical Biology* **2010**, *6*, 166. [CrossRef] [PubMed]
- ⁶³ Salama, A. K.; Kim, K. B. Trametinib (GSK1120212) in the treatment of melanoma. *Expert Opinion Pharmacotherapy* **2013**, *14*, 619. [CrossRef] [PubMed]
- ⁶⁴ Cobimetinib Fumarate, Food and Drug Administration – FDA. Disponível em: <<https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/daf/index.cfm?event=overview.process&aplno=206192>>. Acesso em: 20 dezembro 2017.
- ⁶⁵ Johnson D. B.; Flaherty, K. T.; Weber, J.S.; Infante, J. R.; Kim, K. B.; Kefford, R. F.; Hamid, O.; Schuchter, L.; Cebon, J.; Sharfman, W. H.; McWilliams, R. R.; Sznol, M.; Lawrence, D. P.; Gibney, G. T.; Burris III, H. A.; Falchook, G.S.; Algazi, A.; Lewis, K.; Long, G. V.; Patel, K.; Ibrahim, N.; Sun, P.; Little, S.; Cunningham, E.; Sosman, J. A.; Daud, A.; Gonzalez, R. Combined BRAF (Dabrafenib) and MEK Inhibition (Trametinib) in Patients With BRAFV600-Mutant Melanoma Experiencing Progression With Single-Agent BRAF Inhibitor. *Journal of Clinical Oncology* **2014**, *32*, 3697. [CrossRef] [Link]
- ⁶⁶ FDA approves Cotellic as part of combination treatment for advanced melanoma. Disponível em: <<https://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm471934.htm>>. Acesso em: 21 dezembro 2017.
- ⁶⁷ Dougan, D.R. 3PP1 - Crystal Structure of the Human Mitogen-activated protein kinase kinase 1 (MEK 1) in complex with ligand and MgATP. Disponível em: <<https://www.rcsb.org/structure/3pp1>>. Acesso em: 13 janeiro 2018.
- ⁶⁸ Nelson, V.; Ziehr, J.; Agulnik, M.; Johnson, M. Afatinib: emerging next-generation tyrosine kinase inhibitor for NSCLC. *OncoTargets Therapy* **2013**, *6*, 135. [CrossRef] [PubMed]
- ⁶⁹ McDermott, J.; Jimeno, A. Ibrutinib for the treatment of chronic lymphocytic leukemia and mantle cell lymphoma. *Drugs Today* **2014**, *50*, 291. [CrossRef] [PubMed]
- ⁷⁰ Cross, D.A.E.; Ashton, S.E.; Ghiorghiu, S.; Eberlein, C.; Nebhan, C.A.; Spitzler, P.J.; Orme, J.P.; Finlay, M.R.V.; Ward, R.A.; Mellor, M.J.; Hughes, G.; Rahi, A.; Jacobs, V.N.; Brewer, M.R.; Ichihara, E.; Sun, J.; Jin, H.; Ballard, P.; Al-Kadhimi, K.; Rowlinson, R.; Klinowska, T.; Richmond, G.H.P.; Cantarini, M.; Kim, D.W.; Ranson, M.R.; Pao, W. AZD9291, an Irreversible EGFR TKI, Overcomes T790M-Mediated Resistance to EGFR Inhibitors in Lung Cancer. *Cancer Discovery* **2014**, *4*, 1046. [CrossRef] [PubMed]
- ⁷¹ Juchum, M.; Guenther, M.; Laufer, S. A. Fighting Cancer Drug Resistance: Opportunities and Challenges for Mutation-Specific EGFR. *Drug Resistance Updates* **2015**, *20*, 12. [CrossRef] [PubMed]
- ⁷² Leite, C. A. V. G.; Costa, J. V. G.; Callado, R. B.; Torres, J. N. Júnior, R. C. P. L.; Ribeiro, R. A. Receptores tirosina-quinase: implicações terapêuticas no câncer. *Revista Brasileira de Oncologia Clínica* **2012**, *29*, 130. [Link]