

## CAPÍTULO 12

# ESTUDO DE DOCKING MOLECULAR DAS INTERAÇÕES ENTRE BERBERINA E CICLINA D1



<https://doi.org/10.22533/at.ed.6191225020112>

Data de aceite: 14/04/2025

### João Henrique Lima Wanderley

Universidade Federal da Paraíba

João Pessoa - Paraíba

<http://lattes.cnpq.br/4841483042323059>

### Diogo Leonardo Santos Silva

Universidade Federal da Paraíba

João Pessoa - Paraíba

<http://lattes.cnpq.br/6452402484117983>

### Layla Beatriz do Nascimento Melo

Universidade Federal da Paraíba

João Pessoa - Paraíba

<http://lattes.cnpq.br/8078377933176827>

### Amanda Borges Gomes

Universidade Federal da Paraíba

João Pessoa - Paraíba

<http://lattes.cnpq.br/2877666292815753>

### Maria Victória Patrício da Silva

Universidade Federal da Paraíba

João Pessoa - Paraíba

<http://lattes.cnpq.br/7003745533534405>

### Jeremias Antunes Gomes Cavalcante

Universidade Federal da Paraíba

João Pessoa - Paraíba

<http://lattes.cnpq.br/3492493037634696>

### Glaucia Veríssimo Faheina Martins

Universidade Federal da Paraíba

João Pessoa - Paraíba

<http://lattes.cnpq.br/6142558053100507>

**RESUMO:** O câncer colorretal é uma das neoplasias malignas mais incidentes globalmente, com a desregulação do ciclo celular desempenhando papel central em sua patogênese. A superexpressão da ciclina D1, que forma complexos ativadores com cinase dependentes de ciclina 4/6 (CDK4/6) para promover a transição G1/S, emerge como alvo terapêutico promissor. Neste contexto, a berberina (alcaloide isoquinolínico com comprovada atividade antiproliferativa) surge como molécula promissora para estudos anticâncer. Logo, o objetivo foi avaliar as interações entre berberina e a ciclina D1 por meio de estudo *in silico*. A modelagem da ciclina D1 humana foi realizada no SWISS-MODEL. O refinamento do modelo ocorreu no GalaxyRefine e a validação estereoquímica foi realizada no PROCHECK. Os ligantes (berberina e fascaplisina) foram obtidos no PubChem. O docking molecular foi realizado no AutoDock 4.2. A predição do sítio de ligação com a CDK4/6 ocorreu no GHECOM. Como resultado, a estrutura proteica com excelente qualidade (96,7% resíduos em regiões favoráveis) foi obtida. As interações intermoleculares demonstraram afinidade dos ligantes com aminoácidos do sítio de ligação com a

CDK4/6 da ciclina D1 (energia de ligação: -6,81 a -5,9 kcal/mol para berberina e (-7,88 a -7,27 kcal/mol para a fascaplisina). Deste modo, conclui-se que, a berberina apresentou potencial efeito inibitório por competição na ciclina D1, o que pode ocasionar a parada do ciclo celular em G1/S, o que torna este alcaloide uma promissora molécula para estudos experimentais para validar ou descartar esta aplicação.

**PALAVRAS-CHAVE:** Bioprospecção; Pesquisa e desenvolvimento de fármacos; Bioinformática; Neoplasias malignas gastrointestinais.

## MOLECULAR DOCKING STUDIES OF THE INTERACTIONS BETWEEN BERBERINE AND CYCLIN D1

**ABSTRACT:** Colorectal cancer is one of the most common malignancies worldwide, with cell cycle dysregulation playing a central role in its pathogenesis. Overexpression of cyclin D1, which forms activating complexes with cyclin-dependent kinase 4/6 (CDK4/6) to promote the G1/S transition, has emerged as a promising therapeutic target. In this context, berberine (an isoquinoline alkaloid with proven antiproliferative activity) appears as a promising molecule for anticancer studies. Therefore, the objective was to evaluate the interactions between berberine and cyclin D1 through in silico studies. Modeling of human cyclin D1 was performed in SWISS-MODEL. Model refinement was performed in GalaxyRefine and stereochemical validation was performed in PROCHECK. The ligands (berberine and fascaplysin) were obtained from PubChem. Molecular docking was performed in AutoDock 4.2. The prediction of the CDK4/6 binding site was performed at GHECOM. As a result, the protein structure with excellent quality (96.7% residues in favorable regions) was obtained. The intermolecular interactions demonstrated affinity of the ligands with amino acids of the CDK4/6 binding site of cyclin D1 (binding energy: -6.81 to -5.9 kcal/mol for berberine and (-7.88 to -7.27 kcal/mol for fascaplysin). Thus, it is concluded that berberine presented a potential inhibitory effect by competition on cyclin D1, which can cause cell cycle arrest in G1/S, which makes this alkaloid a promising molecule for experimental studies to validate or discard this application.

**KEYWORDS:** Bioprospecting; Drug research and development; Bioinformatics; Gastrointestinal malignant neoplasms.

## INTRODUÇÃO

O câncer é um dos principais problemas de saúde pública global, sendo uma das principais causas de morte no mundo, e segundo dados do Instituto Nacional de Câncer, o câncer colorretal (CCR) é a terceira neoplasia de maior incidência em homens e mulheres no Brasil (Tofani *et al.*, 2024).

Essa doença caracteriza-se pela rápida e descontrolada replicação de células, que leva ao surgimento de tumores. Esse processo é iniciado pela ativação de genes chamados proto-oncogenes que ao sofrerem mutações, passam a ser denominados de oncogenes, sendo estes responsáveis por transformarem células saudáveis em cancerígenas, resultando no crescimento agressivo e muitas vezes invasivo (Cândido, 2023).

O ciclo celular é um processo fundamental para a proliferação celular, composto por 4 fases principais: G1, S, G2 e M. Durante a fase G1, a célula acumula massa, sintetiza proteínas e verifica condições para avançar no ciclo. Na fase S, ocorre a replicação do DNA, e em G2, a célula confere a integridade do DNA replicado e prepara estruturas como o fuso mitótico. A fase M inclui a mitose e a citocinese, formando duas células-filhas geneticamente idênticas. Células que não proliferam podem entrar em G0, um processo quiescente. Esses mecanismos são rigidamente controlados por mecanismos moleculares, como atuação das ciclinas e cinases dependentes de ciclina (CDK) (Qie; Diehl, 2016).

Para garantir o avanço harmoniosamente do ciclo celular, as células possuem pontos de controle (*checkpoints*), que regulam cada fase. As ciclinas, proteínas cruciais nesse processo, são expressas de forma variável ao longo do ciclo (Bartolomei *et al.*, 2024). Dentre estas, a ciclina D1, codificada pelo gene *CCND1*, desempenha um papel central na fase G, onde se ligam as CDK 4/6, de forma que, uma vez unidas, induzem à transição G1/S. Logo, a superexpressão da ciclina D1 está frequentemente associada à progressão celular acelerada, contribuindo para a formação de tumores malignos (Cândido, 2023).

O CCR apresenta uma complexidade clínica e epidemiológica de elevada magnitude e multifatorialidade, englobando desafios fundamentais como a detecção tardia e as restrições inerentes às abordagens terapêuticas convencionais. Configurando-se como a segunda neoplasia mais letal em termos de mortalidade oncológica, a identificação precoce desta patologia mostra-se determinante para a otimização dos prognósticos clínicos. Não obstante, uma parcela significativa de pacientes continua a receber o diagnóstico em fases já avançadas da doença, circunstância que restringe substancialmente as possibilidades de intervenção terapêutica e compromete os índices de sobrevida global (Mello *et al.*, 2020; Paes *et al.*, 2021).

No manejo terapêutico do CCR, destacam-se três principais abordagens: a ressecção cirúrgica, protocolos quimioterápicos e terapias-alvo moleculares. Embora a quimioterapia constitua o pilar do tratamento em estágios avançados, sua eficácia é comprometida por significativas limitações, incluindo toxicidade sistêmica e desenvolvimento de resistência farmacológica (Moura *et al.*, 2020).

Dante de informações como essas, buscas extensas são realizadas com o intuito de descobrir novas substâncias ativas que possam ser utilizadas na terapêutica de inúmeras doenças, utilizando-se de fontes animais, minerais e, em especial, vegetais (Brasil, 2012). Dentre as diversas classes de metabólitos secundários presentes em plantas medicinais, os alcaloides representam um dos maiores grupos, com muitas estruturas e rotas biossintéticas variadas (Matsuura; Fett-Neto, 2015), cuja distribuição pode abranger partes da planta como sementes, raízes, folhas, flores e frutos (Luo *et al.*, 2021).

Os alcaloides possuem um esqueleto central contendo pelo menos um anel cíclico heterogêneo com nitrogênio em sua composição, de baixo peso molecular e de natureza alcalina (Debnath *et al.*, 2018). Por conta de sua quantidade e variedade de moléculas, esse grupo pode apresentar diversas ações farmacológicas, como antioxidant, antibacteriana e antiproliferativa (Dey *et al.*, 2020).

A berberina é um alcaloide que apresenta na sua estrutura um núcleo isoquinolínico, extraído de espécies vegetais chinesas, como *Coptis chinensis*, e plantas do gênero *Berberis* (Song; Hao; Fan, 2020). Deste gênero, as espécies *B. vulgaris*, *B. aristata*, *B. aquifolium*, *B. croatica*, *B. thunbergii*, *B. asiatica* são plantas rasteiras que crescem no continente europeu e asiático. A berberina está presente em folhas, cascas, raízes, rizomas e no caule dessas espécies (Signh *et al.*, 2021).

O uso medicinal de espécies vegetais contendo berberina, como a *Rhizoma coptidis*, data de 200 anos antes de Cristo. No entanto, seu uso continua em alta na medicina tradicional chinesa por conta de suas propriedades farmacológicas como sua atividade antibacteriana, antidiabética, neuroprotetora, hipolipêmica e antidepressiva (Och; Podgórski; Nowak, 2020).

Além disso, abordagens computacionais de triagem de compostos tornaram-se fundamentais na análise de interações entre fármacos e ligantes (Salaam *et al.*, 2025). Logo, o objetivo foi avaliar as interações entre berberina e a ciclina D1 por meio de estudo *in silico*.

## METODOLOGIA

### DELINEAMENTO DO ESTUDO

Trata-se de um estudo *in silico* sobre o potencial efeito anticâncer da berberina sobre a ciclina D1 de humanos. Logo, a ciclina D1 foi considerada como o alvo molecular, a berberina como ligante a ser estudado e a fascaplisina, molécula com inibição conhecida da ciclina D1 (Wang *et al.*, 2023), como controle de qualidade neste estudo.

### MODELAGEM MOLECULAR E REFINAMENTO

Inicialmente, a sequência de resíduos de aminoácidos que compõem a proteína ciclina D1 de humanos (P24385) foi obtida no UNIPROT (<https://www.uniprot.org/>). Em seguida, a sequência foi utilizada no servidor SWISS-MODEL para a modelagem molecular por homologia (Waterhouse *et al.*, 2018). O refinamento energético foi realizado no GalaxyRefine (Ko *et al.*, 2012). Por fim, a qualidade estereoquímica do modelo proteico foi avaliada no PROCHEK, utilizando a ferramenta do gráfico de Ramachandran (Laskowski *et al.*, 1993).

### OBTENÇÃO DOS LIGANTES

A estrutura química em formato SMILES para a berberina (2353) e a fascaplisina (73293) foram obtidas no PubChem e convertida para formato PDB no servidor OpenBabel (<https://www.cheminfo.org/Chemistry/Ceminformatics/FormatConverter/index.html>).

## DOCKING MOLECULAR

Inicialmente, hidrogênios polares, bem como cargas de Kollman e Geister foram adicionados à estrutura da ciclina D1. No ligante, foi determinada a raiz como o ponto de torsão. O docking molecular foi realizado no AutoDock 4.2. Para tal, uma caixa grid centralizada na macromolécula, com 126 Å nas dimensões espaciais X, Y e Z, bem como com *spacing* de 0,375 Å foi utilizada. Em seguida, o docking molecular foi realizado selecionando o algoritmo genético Lamarquiano para a análise (Bitencourt-Ferreira; Pintro; De Azevedo JR, 2019).

## ANÁLISE DAS INTERAÇÕES INTERMOLECULARES

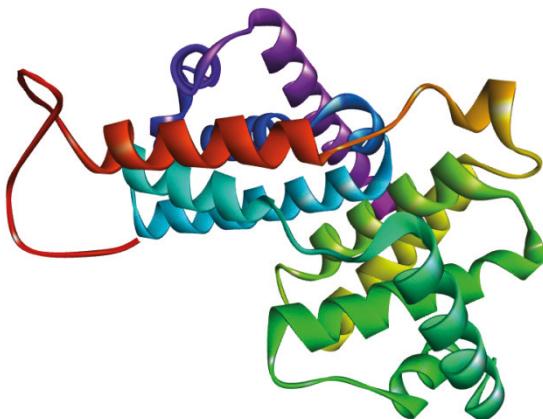
A análise das interações intermoleculares dos dois complexos ciclina D1/berberina e ciclina D1/ fascaplisina com menor energia de ligação foi realizada no *Discovery Studio BIOVIA 2024*.

## PREDIÇÃO DO SÍTO DE LIGAÇÃO COM A CDK4/6

A predição do sítio de ligação da proteína ciclina D1 com a CDK4/6 foi realizada no servidor GHECOM (<https://pdjb.org/ghecom/>).

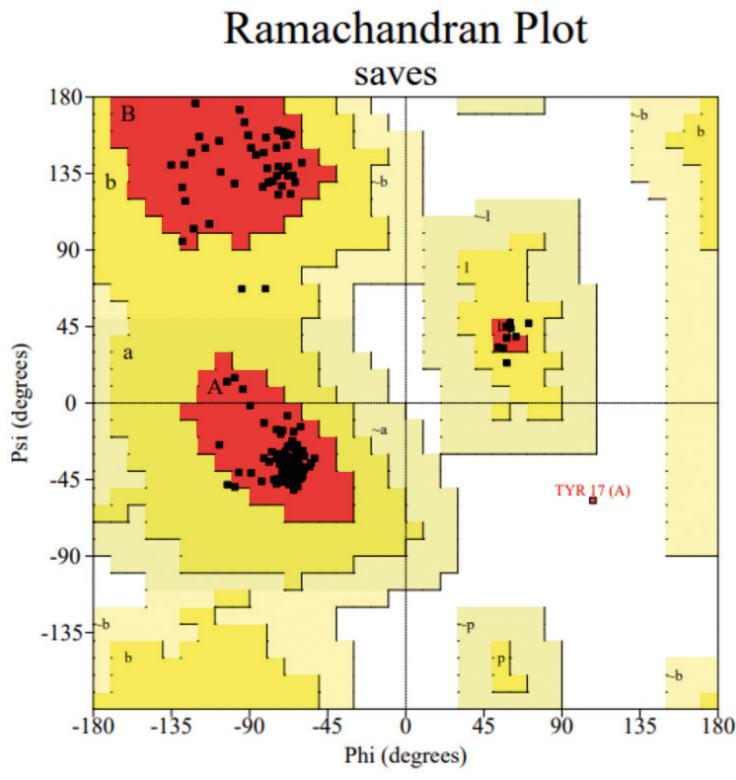
## RESULTADOS

O modelo proteico tridimensional da ciclina D1 encontra-se representado na Figura 01 e a avaliação estereoquímica encontra-se na Figura 02.



**Figura 01.** Modelo tridimensional da ciclina D1, após o refinamento.

Fonte: dados da pesquisa.



Residues in most favoured regions [A,B,L]	234	96.7%
Residues in additional allowed regions [a,b,l,p]	7	2.9%
Residues in generously allowed regions [-a,-b,-l,-p]	0	0.0%
Residues in disallowed regions	1	0.4%
	----	----
Number of non-glycine and non-proline residues	242	100.0%
Number of end-residues (excl. Gly and Pro)	2	
Number of glycine residues (shown as triangles)	3	
Number of proline residues	13	
	----	----
Total number of residues	260	

Based on an analysis of 118 structures of resolution of at least 2.0 Angstroms and R-factor no greater than 20%, a good quality model would be expected to have over 90% in the most favoured regions.

**Figura 02.** Validação estereoquímica do modelo da ciclina D1, após o refinamento.

Fonte: dados da pesquisa.

A avaliação da qualidade estereoquímica do modelo da ciclina D1 demonstrou que 96,7% dos resíduos de aminoácidos encontram-se em regiões mais favoráveis para torsões da molécula, enquanto 2,9% dos resíduos encontram-se em regiões favoráveis para torsões.

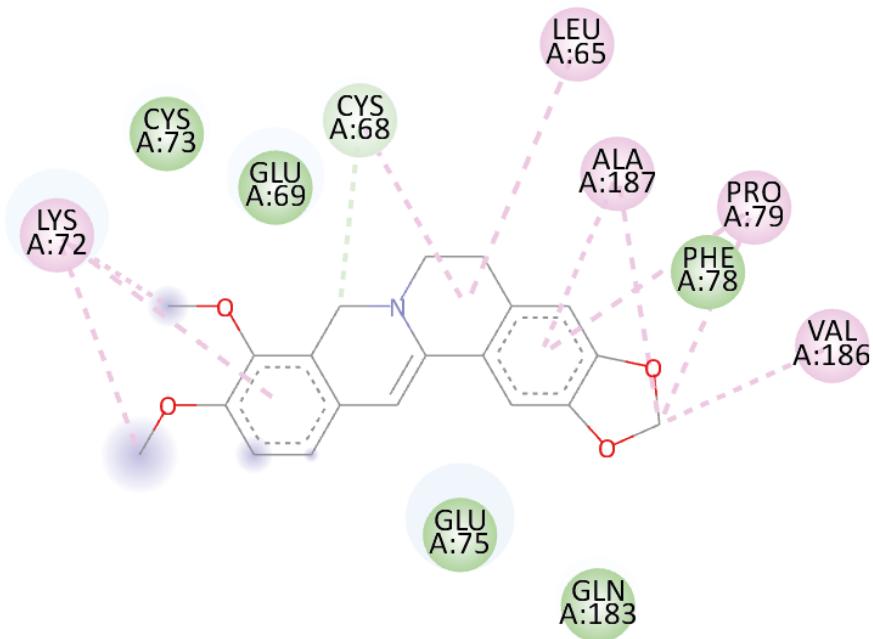
Os dados das energias de ligação, bem como da constante de inibição (Ki) encontram-se abaixo na tabela 01.

Complexos	Berberina		Fascaplisina	
	Energia de ligação (kcal/mol)	Ki ( $\mu$ M)	Energia de ligação (kcal/mol)	Ki ( $\mu$ M)
01	-6,81	10,23	-7,88	1,69
02	-6,76	11,16	-7,88	1,69
03	-6,75	11,23	-7,87	1,69
04	-6,75	11,37	-7,87	1,69
05	-6,71	12,13	-7,87	1,69
06	-6,68	12,79	-7,87	1,69
07	-6,54	16,0	-7,87	1,7
08	-6,29	24,45	-7,87	1,69
09	-6,01	39,52	-7,3	4,46
10	-5,9	47,08	-7,27	4,68

**Tabela 01.** Análise de docking molecular.

Fonte: dados da pesquisa.

A energia de ligação para os complexos ciclina D1/berberina variou de -6,81 a -5,9 kcal/mol, enquanto a Ki variou de 10,23 a 47,08  $\mu$ M. A energia de ligação para os complexos ciclina D1/fascaplisina variou de -7,88 a -7,27 kcal/mol, enquanto a Ki variou de 1,69 a 4,68  $\mu$ M.



#### Interactions

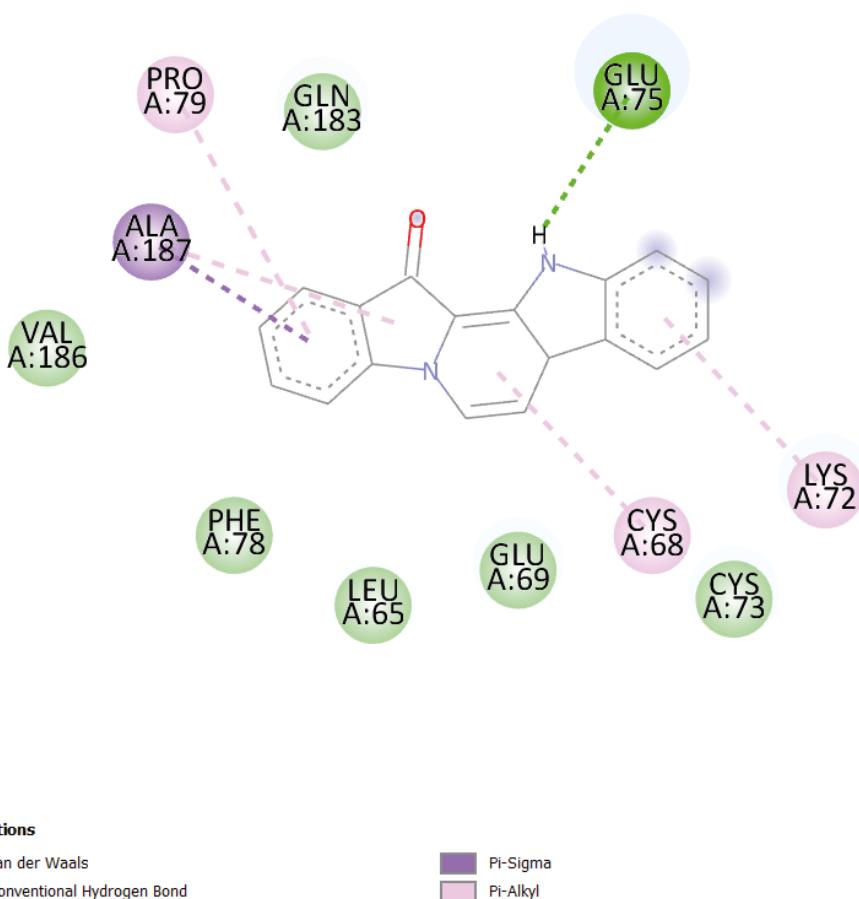
van der Waals  
 Carbon Hydrogen Bond

Alkyl  
 Pi-Alkyl

**Figura 03.** Análise das interações intermoleculares dos complexos 01 e 02 da berberina e ciclina D1.

Fonte: dados da pesquisa.

A berberina interagiu com 11 resíduos de aminoácidos da ciclina D1: 01 ligação carbono-hidrogênio (CYS68), 05 Van der Waals (GLU69, CYS73, GLU75, PHE78 e GLN 183) e 05 por interação hidrofóbica (LEU65, LYS72, PRO79, VAL186 e ALA 187).

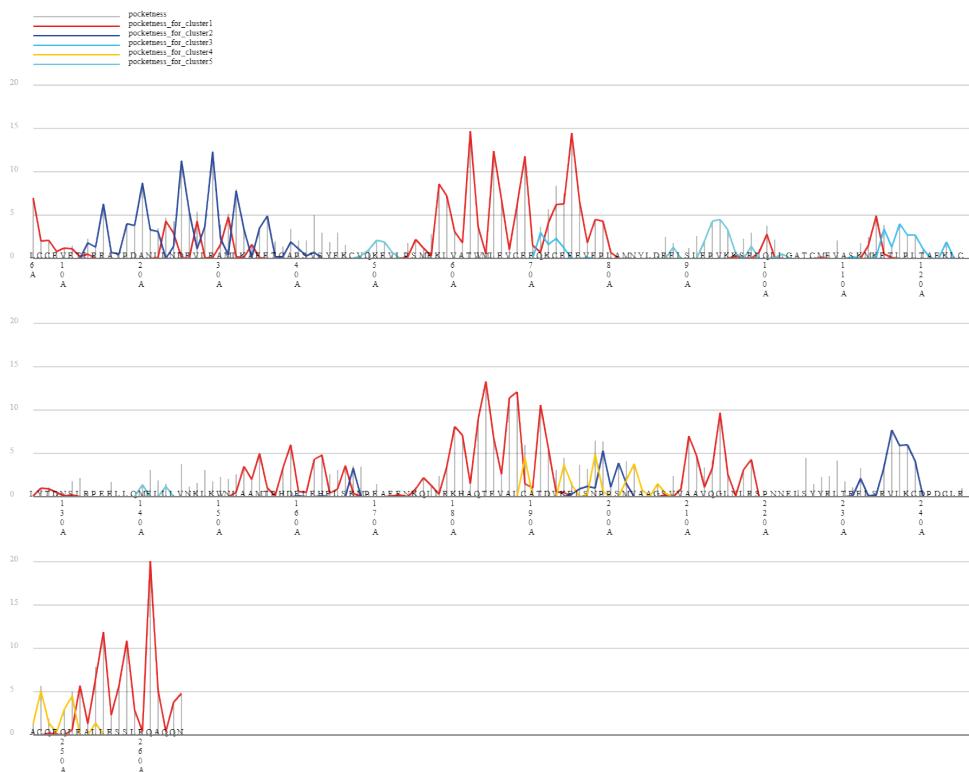


**Figura 04.** Análise das interações intermoleculares dos complexos 01 e 02 da fascaplisina e ciclina D1.

Fonte: dados da pesquisa.

A fascaplisina interagiu com 11 resíduos de aminoácidos da ciclina D1: 1 ligação convencional de hidrogênio (GLU75), 6 Van der Waals (LEU65, GLU69, CYS73, PHE78, GLN183 e VAL186) e 4 hidrofóbicas (CYS68, LYS72, PRO79, ALA187).

Dados da análise do sítio de ligação com a CDK4/6 estão disponíveis abaixo na Figura 05.



**Figura 05.** Previsão do sítio de ligação da ciclina D1 com CDK4/6.

Fonte: dados da pesquisa.

Os resíduos de aminoácidos, os quais os ligantes (berberina e fascaplisina) interagiram, são constituintes do sítio de ligação da ciclina D1 com a CDK4/6.

## DISCUSSÃO

Neste estudo, análises computacionais das interações intermoleculares entre a berberina e a ciclina D1 foram realizadas, a fim de investigar potencial efeito inibidor sobre a proteína.

O gráfico de Ramachandran apontou 234 resíduos (96,7%) nas regiões mais favoráveis para a ocorrência de torsões na proteína, 7 resíduos (2,9%) em regiões permitidas e apenas 1 resíduo (0,4%) em regiões não favoráveis, indicando que o modelo possui conformação estável (Mannige *et al.*, 2015).

Os resultados do docking molecular geraram 10 complexos de interação entre a berberina e a ciclina D1, e a fascaplisina com a ciclina D1. No que tange à energia de ligação, ambos os ligantes formaram complexos energeticamente estáveis com a ciclina D1, pois, apresentaram valores negativos, o que sugere que a formação desse complexo aconteça de forma espontânea, sem a necessidade de uma enzima para a ligação (Morris *et al.*, 2014).

Os dados do docking molecular ainda demonstraram que os complexos formados entre a ciclina D1 e a fascaplisina apresentaram menor energia de ligação e menor Ki em relação aos complexos formados entre a berberina e a ciclina D1. Contudo, o custo de obtenção é um dos principais fatores que limitam possíveis aplicações farmacêuticas da fascaplisina (Wang *et al.*, 2023), enquanto a berberina, por ser obtida com maior facilidade, em espécies vegetais como o *Coptis chinensis* e o *Rhizoma coptidis* (Milani *et al.*, 2021).

A análise das interações intermoleculares demonstrou que a fascaplisina interagiu com resíduos de aminoácidos da ciclina D1 por meio ligações carbono-hidrogênio, de Van der Waals e interações hidrofóbicas em sua atividade inibitória com a ciclina D1, indicando ser um possível inibidor desta proteína, uma vez que interações hidrofóbicas ajudam na estabilização de ligantes energeticamente favoráveis, enquanto ligações de Van der Waals e carbono-hidrogênio promovem interações mais fortes (Patil *et al.*, 2010).

Por outro lado, a interação da fascaplisina com a ciclina D1 ocorreu por meio de ligação convencional de hidrogênio, ligações de Van der Waals e interações hidrofóbicas. Destas, destacando-se no tocante que ligações de hidrogênio são essenciais no reconhecimento macromolecular e na estabilidade das interações, tornando-a um promissor inibidor do alvo proteico (Imran *et al.*, 2022).

Os resíduos de aminoácidos da ciclina D1, os quais a berberina e a fascaplisina interagiram, são componentes do sítio de ligação com a CDK4/6, o que demonstra potencial efeito inibitório por competição sobre o alvo molecular. Esta ação farmacológica torna-se relevante para o tratamento do câncer, uma vez que a formação dos complexo formado pelas ciclinas e CDK são fatores essenciais para a regulação do ciclo celular (Gerosa *et al.*, 2024).

## CONCLUSÃO

Os dados demonstraram que a berberina possui potencial efeito contra cânceres, incluindo o CCR, por inibir a ciclina D1 e sua ligação com a CDK4/6, o qual pode desencadear a parada do ciclo celular em G1/S. Contudo, este potencial efeito deve ser investigado experimentalmente para validar ou descartar esta aplicação. Além disso, embora o efeito inibitório tenha sido menor, a berberina por ser um alcaloide de ocorrência natural pode ser obtido facilmente em comparação com a fascaplisina, o que viabiliza sua extração e aplicações farmacológicas.

## REFERÊNCIAS

- BARTOLOMEI, I. et al. How does Cyclin D1 behavior as a biomarker in papilliferous thyroid carcinomas and multinodular goiters?. *BioScience*, v. 82, e002, p. 7, 2024.
- BITENCOURT-FERREIRA, G.; PINTRO, V. O.; DE AZEVEDO JR, W. F. Docking with autodock4. In: *Docking screens for drug discovery*. New York, NY: Springer New York, 2019. p. 125-148.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **PRÁTICAS INTEGRATIVAS E COMPLEMENTARES: plantas medicinais e fitoterapia na atenção básica**. Brasília: Ministério da Saúde, 2012. 156 p. (Série A. Normas e Manuais Técnicos) (Cadernos de Atenção Básica; n. 31).
- BRAY, F. et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, v.68, n.6, p.394-424, 2018. doi:10.3322/caac.21492.
- CÂNDIDO, I. Características clínico-patológicas e prospecção das ciclinas D1 e KI-67 no diagnóstico e prognóstico de pacientes com câncer colorretal. 2023. 83 p. Dissertação (Mestrado em Biologia celular e molecular) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2023.
- CAVALCANTI, I.D.L. et al. Fatores de risco e estratégias para o rastreamento do câncer colorretal: uma revisão integrativa. *Revista Brasileira de Cancerologia*, v.63, n.2, p.125-134, 2017. doi:10.32635/2176-9745.RBC.2017v63n2.77.
- DEBNATH, B. et al. Role of plant alkaloids on human health: A review of biological activities. *Materials today chemistry*, v. 9, p. 56-72, 2018.
- DEY, P. et al. Analysis of alkaloids (indole alkaloids, isoquinoline alkaloids, tropane alkaloids). In: *Recent advances in natural products analysis*. Elsevier, 2020. p. 505-567.
- GEROZA, R. et al. Cyclin-dependent kinase 2 (CDK2) inhibitors and others novel CDK inhibitors (CDKI) in breast cancer: clinical trials, current impact, and future directions. *Critical Reviews in Oncology / Hematology*, v. 196, p. 1, mar. 2024.
- IMRAN, M., et al. *In silico screening, SAR and kinetic studies of naturally occurring flavonoids against SARS CoV-2 main protease*. *Arabian Journal of Chemistry*, v.15. 2022. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2021.103473>.
- KEUM, N.; GIOVANNUCCI, E. Global burden of colorectal cancer: emerging trends, risk factors and prevention strategies. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, v.16, n.12, p.713-732, 2019. doi:10.1038/s41575-019-0189-8.
- KO, J. et al. GalaxyWEB server for protein structure prediction and refinement. *Nucleic acids research*, v. 40, n. W1, p. W294-W297, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gks493>.
- LASKOWSKI, R. A. et al. PROCHECK: a program to check the stereochemical quality of protein structures. *Journal of Applied Crystallography*, v. 26, p. 283-291, 1993. DOI: <https://doi.org/10.1107/S0021889892009944>.
- LUO, Y. et al. Tumor microenvironment: a prospective target of natural alkaloids for cancer treatment. *Cancer Cell International*, v. 21, p. 1-20, 2021.

MATSUURA, H. N.; FETT-NETO, A. G. **Plant alkaloids: main features, toxicity, and mechanisms of action.** Plant toxins, v. 2, n. 7, p. 1-15, 2015.

MELLO, R.A. et al. **Câncer colorretal: da biologia molecular à terapêutica personalizada.** Acta Médica Portuguesa, v.33, n.12, p.823-832, 2020. doi:10.20344/amp.12678.

MILANI, G. et al. **Molecular simplification of natural products: synthesis, antibacterial activity, and molecular docking studies of berberine open models.** Biomedicines, v. 9, n. 5, p. 452, 2021.

MORRIS, G.M. et al. **AutoDock Version 4.2; Updated for version 4.2.6.** SL: The Scripps Research Institute, 2014.

MOURA, C.M. et al. **Limitações da quimioterapia no câncer colorretal metastático: uma análise crítica.** Revista de Medicina, v.99, n.4, p.321-330, 2020. doi:10.11606/issn.1679-9836.v99i4p321-330.

OCH, A., PODGÓRSKI, R., NOWAK, R. **Biological activity of berberine—A summary update.** Toxins, v. 12, p. 713-739, 2020.

PAES, R.A. et al. **Diagnóstico tardio no câncer colorretal: impactos na sobrevida global.** Journal of Coloproctology, v.41, n.2, p.156-163, 2021. doi:10.1016/j.jcol.2020.12.003.

PATIL, R. et al. **Optimized hydrophobic interactions and hydrogen bonding at the target-ligand interface leads the pathways of drug-designing.** PLoS One, v.5, n.8, 2010. doi:10.1371/journal.pone.0012029.

QIE, S., DIEHL, A. **Cyclin D1, cancer progression, and opportunities in cancer treatment.** *Journal of molecular medicine*, Berlin, v. 94, n.12, p.1, out. 2016.

SALAAM, R. A. et al. **In silico repurposing of FDA-approved drugs as multi-target inhibitors of glioblastoma.** Scientific African. v.27. 2025. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2025.e02582>.

SINGH, S. et al. **Plant isoquinoline alkaloids: Advances in the chemistry and biology of berberine.** European journal of medicinal chemistry, v. 226, p. 113839, 2021.

SONG, D.; HAO, J.; FAN, D. **Biological properties and clinical applications of berberine.** Frontiers of Medicine, v. 14, p. 564-582, 2020.

TOFANI, A. et al. **Mortalidade por Câncer de Cólon e Reto no Brasil e suas Regiões entre 2006 e 2020.** Revista Brasileira de Cancerologia, Brasil, v. 70, n. 1, p. 2, mar. 2024.

WANG, C. et al. **Marine-derived lead fascaplysin: Pharmacological activity, total synthesis, and structural modification.** Marine Drugs, v.21, n.4, p.226, 2023. doi:10.3390/md21040226.

WATERHOUSE, A. et al. **SWISS-MODEL: homology modelling of protein structures and complexes.** Nucleic Acids Research, v. 46, n. W1, p. W296-W303, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gky427>.