

# Estudos de Ancoramento Molecular de Inibidores de PDE4 Utilizando o Programa FlexX com Diferentes Esquemas de Cargas

Ariane de J. Sousa (IC)<sup>a\*</sup>, Nelilma C. Romeiro (PQ)<sup>a</sup>, Carlos A. M. Fraga (PQ<sup>a</sup> e Eliezer J. Barreiro (PQ)<sup>a</sup>  
\*ariane.jesus@gmail.com

<sup>a</sup> Laboratório de Avaliação e Síntese de Substâncias Bioativas (LASSBio®), Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Caixa Postal 68023, 21944-971, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

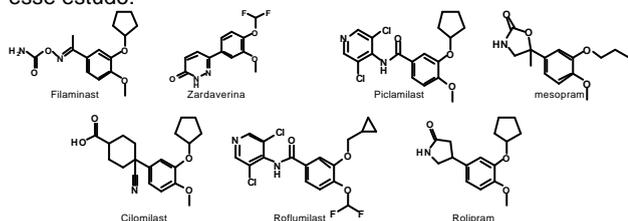
Palavras Chave: Ancoramento Molecular, PDE4, Inflamação.

## Introdução

As fosfodiesterases do tipo 4 (PDE4) são a única rota de degradação do AMPc, sendo encontradas em muitos tipos de células e tecidos, incluindo células inflamatórias e epitélio das vias aéreas. A sua inibição aumenta os níveis de AMPc gerando uma cascata de respostas biológicas. Inibidores de PDE4, como o Rolipram e o Cilomilast são eficazes na asma, doença pulmonar crônica obstrutiva (COPD) e em artrite reumatóide, entre outros. A busca por novos inibidores de PDE4 demanda o conhecimento aprofundado das interações fármaco-enzima, responsáveis pela atividade biológica dessa classe terapêutica.<sup>1</sup>

Nesse trabalho, descrevemos estudos de ancoramento molecular de alguns inibidores de PDE4 com o programa FlexX,<sup>2</sup> visando correlacionar valores da atividade biológica com valores de energia livre de ligação ( $\Delta G_{\text{bind}}$ ), pelo assinalamento de diferentes cargas teóricas, para aplicação em um protocolo de avaliação da atividade *in silico*. Foram selecionados 7 inibidores (Figura 1) e as estruturas de raios X da PDE4D (código 1XOM) e da PDE4B (código 1XLZ), com valores de resolução de 1,55 Å, foram obtidas no Protein Data Bank.<sup>3</sup> Cargas AM1,<sup>4</sup> PM3,<sup>5</sup> Gasteiger-Hückel<sup>6</sup> e MMFF94<sup>6</sup> foram assinaladas.

**Figura 1.** Estruturas dos inibidores de PDE4 selecionados para esse estudo:



## Resultados e Discussão

De modo geral, cargas AM1/PM3 geraram boa correlação com as interações observadas nas estruturas de PDE4 co-cristalizadas com inibidores, quando disponíveis (dados não demonstrados). Na avaliação da correlação quantitativa entre valores de  $pIC_{50}$  ( $-\text{Log}IC_{50}$ ) e o valor de  $\Delta G_{\text{bind}}$  total (Equação 1), os valores de  $R^2$  foram baixos, independentemente da carga utilizada (Tabela 1).

Porém, ao utilizarmos termos de energia componentes da função de *score* (Equação 1) independentemente, os valores de  $R^2$  foram bastante significativos, indicando que algum dos outros termos da função está mal parametrizado para esse sistema.

$$\Delta G_{\text{bind}}^{\text{(total)}} = \Delta G_{\text{match}} + \Delta G_{\text{lipo}} + \Delta G_{\text{ambig}} + \Delta G_{\text{clash}} + \Delta G_{\text{rot}} \quad (\text{Eq. 1})$$

O melhor valor de  $R^2$  observado para a análise da PDE4B foi obtido com cargas PM3 ( $R^2 = 0,78$ ) e  $\Delta G_{\text{match}}$ , enquanto que cargas AM1 ou PM3 levaram a correlações próximas na avaliação da PDE4D ( $R^2_{\text{AM1}} = 0,84$  e  $R^2_{\text{PM3}} = 0,75$  com  $\Delta G_{\text{match}}$ ). Na correlação com  $\Delta G_{\text{lipo}}$  e PDE4D, as cargas AM1 levaram à melhor correlação ( $R^2 = 0,84$ ) (Tabela 1).

**Tabela 1.** Valores de correlação ( $R^2$ ) entre a  $pIC_{50}$  de inibidores de PDE4B e PDE4D e termos de energia livre teórica ( $\Delta G$ ) da função de *score* do FlexX:

Subtipo de PDE4	<sup>a</sup> $\Delta G_{\text{bind}}$			
	<sup>b</sup> $R^2$ (AM1)	$R^2$ (PM3)	$R^2$ (Gasteiger-Hückel)	$R^2$ (MMFF94)
PDE4B	0,01	0,11	ND	ND
PDE4D	0,01	0,12	0,03	0,03
	<sup>c</sup> $\Delta G_{\text{match}}$			
	$R^2$ (AM1)	$R^2$ (PM3)	$R^2$ (Gasteiger-Hückel)	$R^2$ (MMFF94)
PDE4B	0,30	<b>0,78</b>	ND	ND
PDE4D	<b>0,84</b>	0,75	0,66	0,67
	<sup>d</sup> $\Delta G_{\text{lipo}}$			
	$R^2$ (AM1)	$R^2$ (PM3)	$R^2$ (Gasteiger-Hückel)	$R^2$ (MMFF94)
PDE4B	0,02	0,47	ND	ND
PDE4D	<b>0,84</b>	0,63	0,58	0,91

<sup>a</sup> Energia livre de ligação total; <sup>b</sup> Quadrado do coeficiente de correlação; <sup>c</sup> Energia livre de interações direcionadas; <sup>d</sup> Energia livre de interações lipofílicas.

## Conclusões

Este estudo mostrou a importância do assinalamento de cargas obtidas por diferentes métodos visando otimizar o processo de *screening virtual* de candidatos a ligantes de PDE4 com o FlexX. Esse protocolo está sendo utilizado para a seleção *in silico* de moléculas para testes biológicos.

## Agradecimentos

IM-INOFAR (#420.015/05-1), CNPq, FAPERJ, PRONEX

<sup>1</sup> Houslay, Y. *et al.* DDT **2005**, 1359; <sup>2</sup> Rarey, M. *et al.* *J. Mol. Biol.*, **1996**, 261, 470; <sup>3</sup> Berman H. M. *et al.* *Nucleic Acids Res.*, **2000**, 28, 235; <sup>4</sup> Dewar, M. J. S. *et al.* *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, 107, 3902; <sup>5</sup> Stewart, J. J. P. *J. Comput. Chem.* **1989**, 10, 209.; <sup>6</sup> SYBYL 7.3 ed., Tripos Inc., 1699 South Hanley Rd., St. Louis, Missouri, 63144, USA; <http://www.tripos.com>.