Métodos para o Planejamento Racional de Fármacos

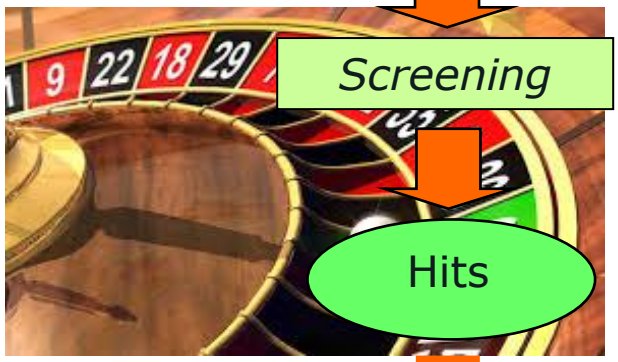
Dr. Carlos Mauricio R. Sant'Anna

PPGQ, PPGMMC – UFRuralRJ

LASSBio - UFRJ

Estratégias Gerais da Descoberta de Compostos Bioativos

Bibliotecas de produtos naturais (de plantas, animais marinhos, etc.) ou de compostos sintéticos ou novas estruturas obtidas com o uso de química combinatória



Screening

Hits

Avaliação Preliminar

Lead

Conhecimento parcial ou completo do mecanismo de interação entre o composto bioativo (ligante) e o alvo biológico

Planejamento racional

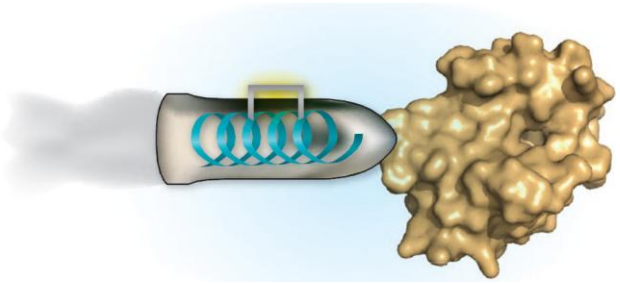
Hits

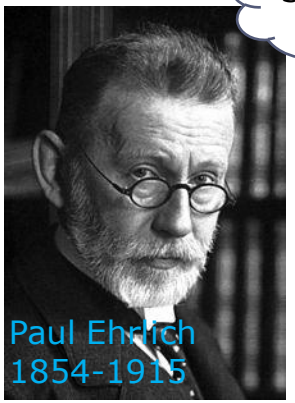
Avaliação Preliminar

Lead

Planejamento Racional de Fármacos: A origem do conceito

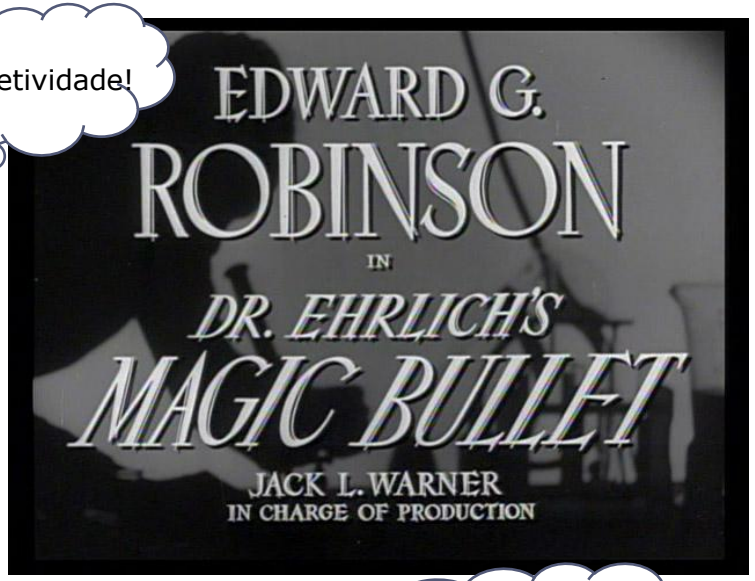
- Balas Mágicas



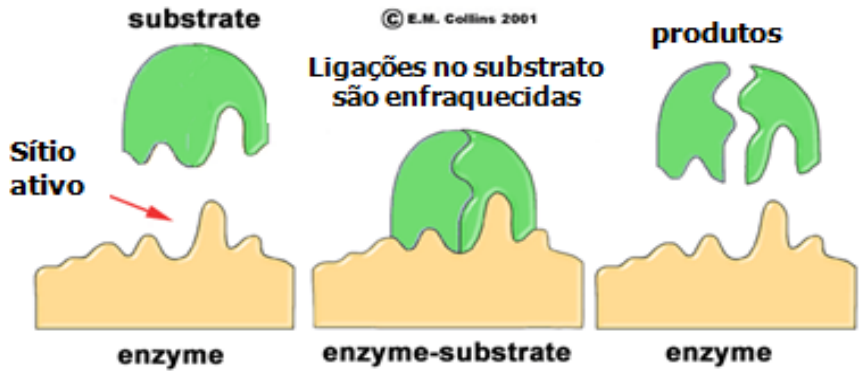


Paul Ehrlich
1854-1915

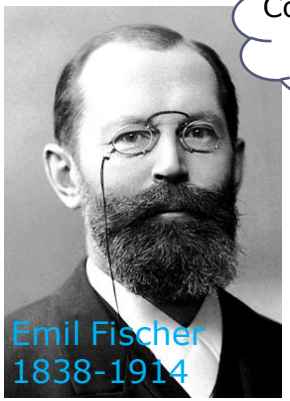
Seletividade!



- Modelo Chave-Fechadura



Complementaridade estrutural!

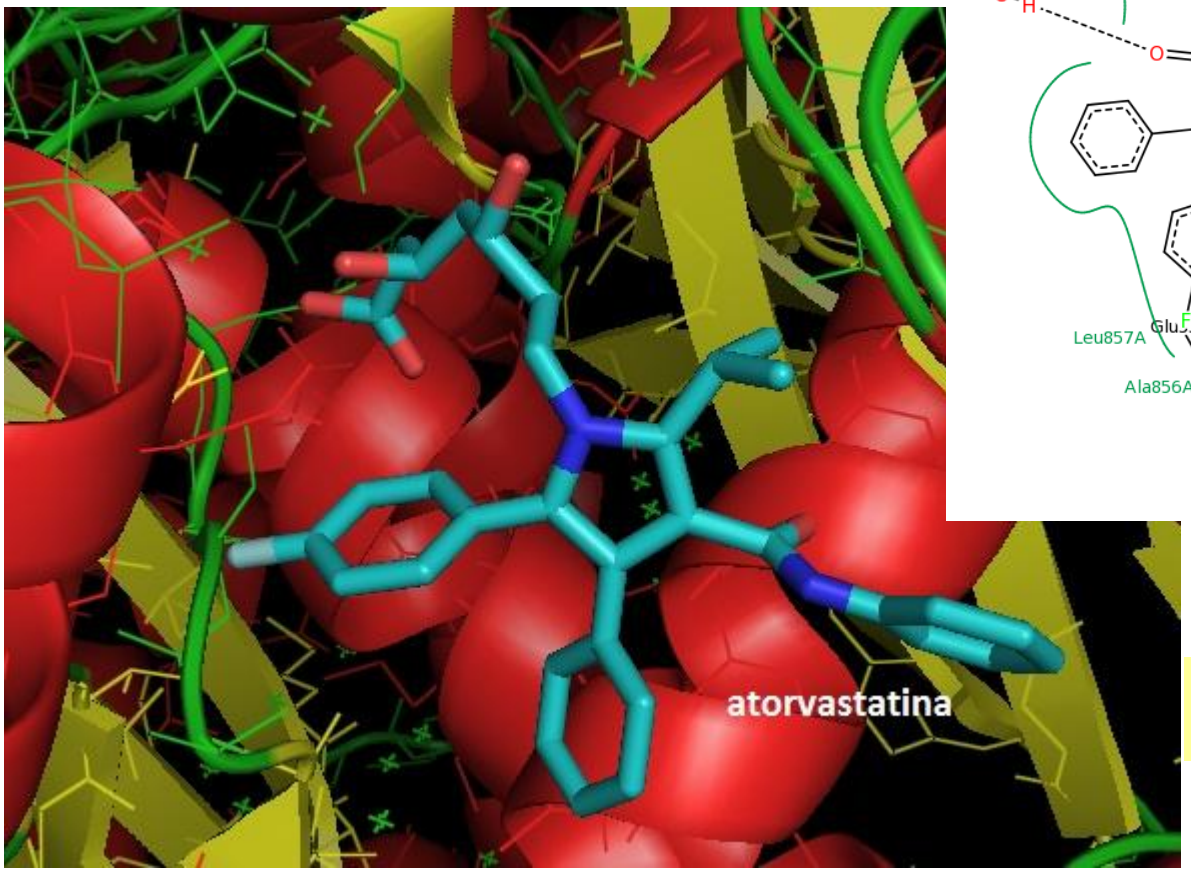


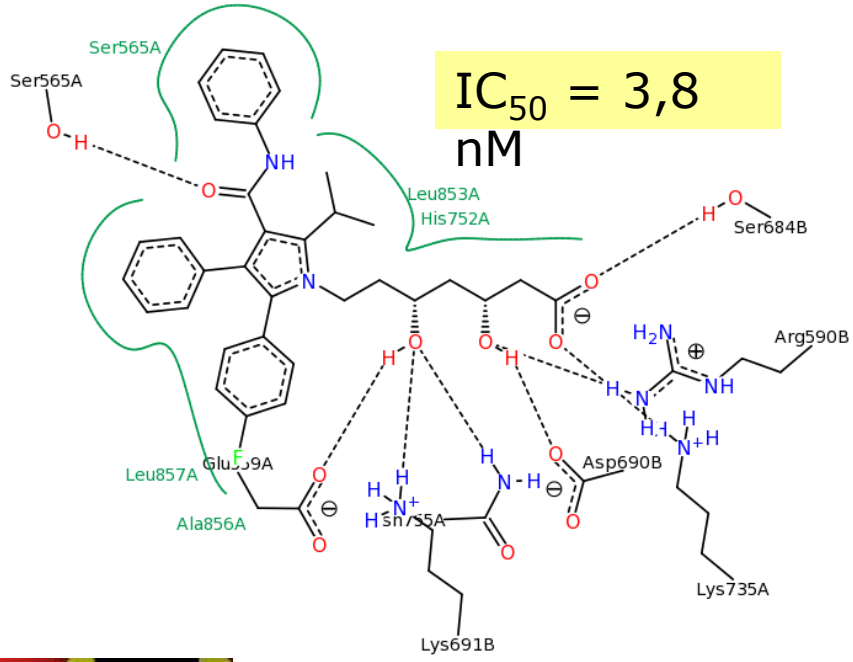
Emil Fischer
1838-1914

C.M.R. Sant'Anna, 2014

Complementaridade estrutural: Razões moleculares

Complexo HMG-CoA redutase/atorvastatina

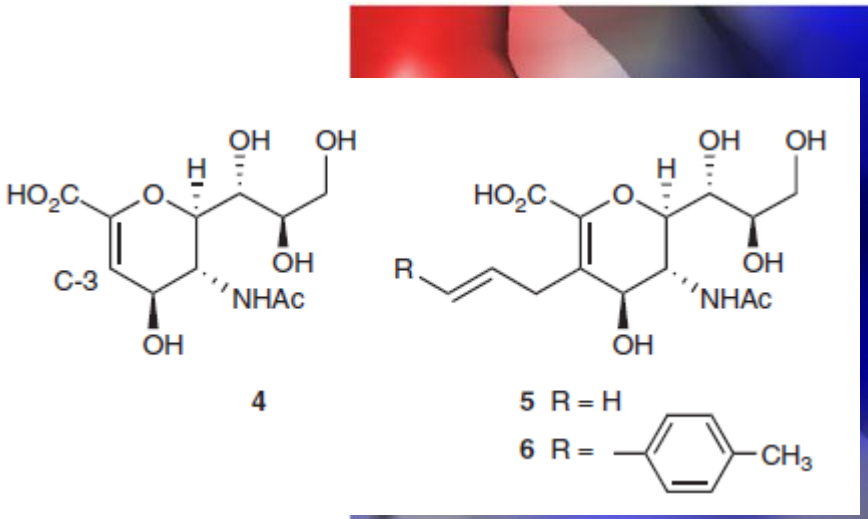




IC_{50} = 3,8 nM

Park, W. K. *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 18, 1151-6 (2008)

Complementaridade estrutural: Razões moleculares



Potencial eletrostático mapeado sobre a superfície molecular da sialidade do vírus da influenza A (Rudrawar et al., *Nature Communications*, doi:10.1186/1471-2105-2-2)

Modelagem Molecular no Planejamento Racional de Fármacos

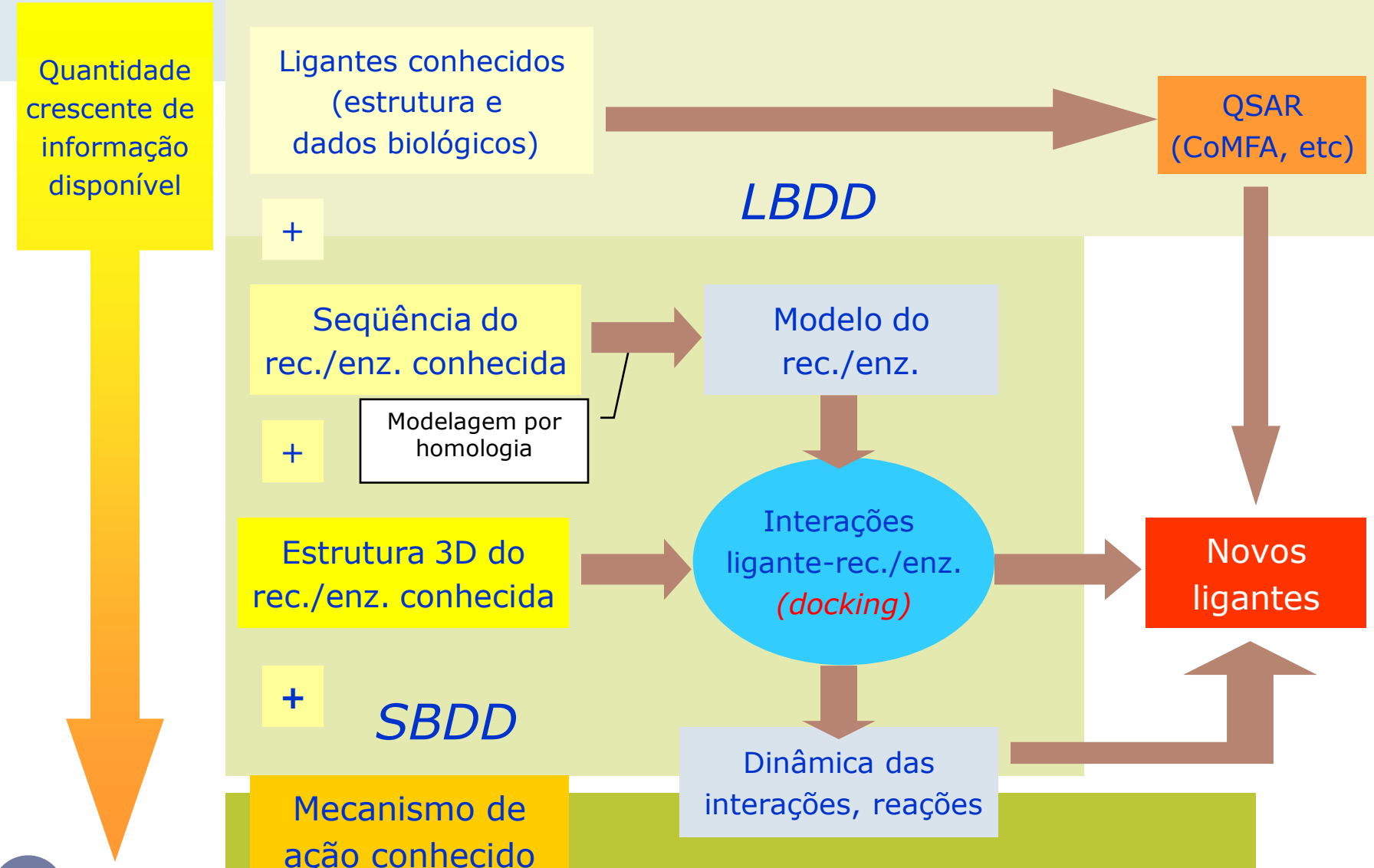
A Modelagem Molecular faz uso de diferentes teorias e programas de computador para criar modelos da estrutura molecular e prever suas propriedades (como sua energia, potencial eletrostático, etc).

Em Química Medicinal, a modelagem molecular é usada para se fazer o Planejamento de Fármacos Auxiliado por Computadores (CADD, do inglês *Computer Assisted Drug Design*).

As estratégias empregadas para o CADD são divididas em dois grandes grupos, o Planejamento de Fármacos Baseado na Estrutura dos Ligantes (LBDD, do inglês *Ligand Based Drug Design*) e o Planejamento de Fármacos Baseado na Estrutura do Receptor (SBDD, do inglês *Structure Based Drug Design*.

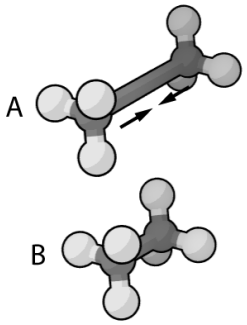
C.M.R. Sant'Anna, 2014

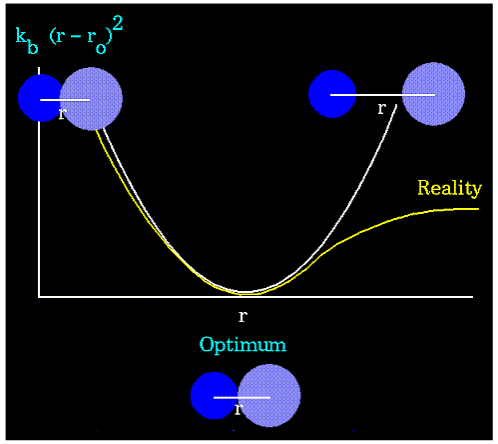
Estratégias do Planejamento Racional

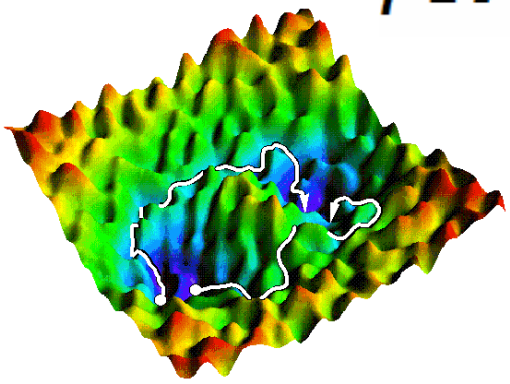


Modelagem Molecular: Métodos

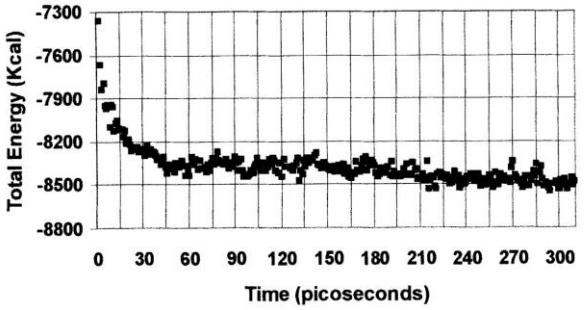
Métodos Clássicos: mecânica e dinâmica moleculares



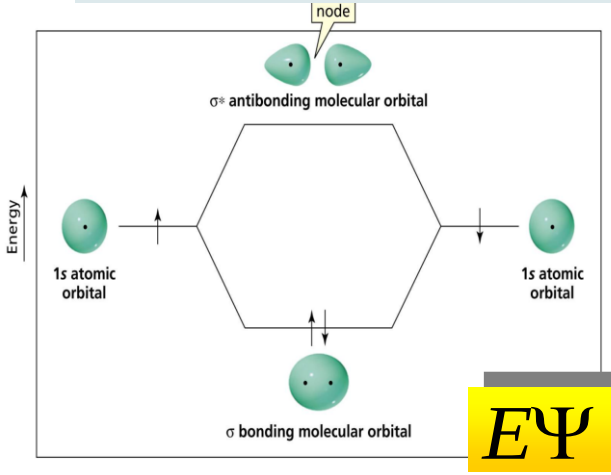




$$F = -\nabla V(r^{(i)}) \qquad a = F/m$$

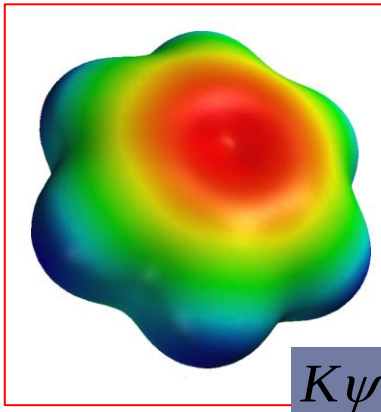


Métodos Quânticos: orbitais moleculares e funcional de densidade



Semi-empíricos, Hartree-Fock, Moeller-Plesset (MP*n*), Interação de configuração (CI), etc.

$$E\Psi = H\Psi$$

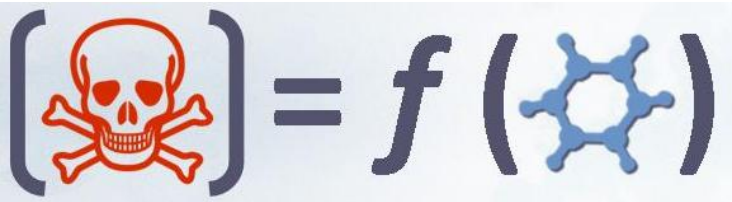


DFT

$$K\psi_i(\rho) = E_i\psi_i(\rho)$$

LBDD: Correlações Quantitativas entre Estrutura e Atividade (QSAR)

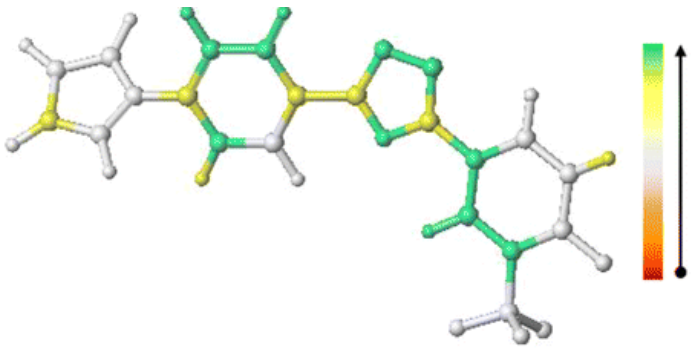
Dados experimentais de atividade (Ki, IC_{50}...)



Informações estruturais (descritores)

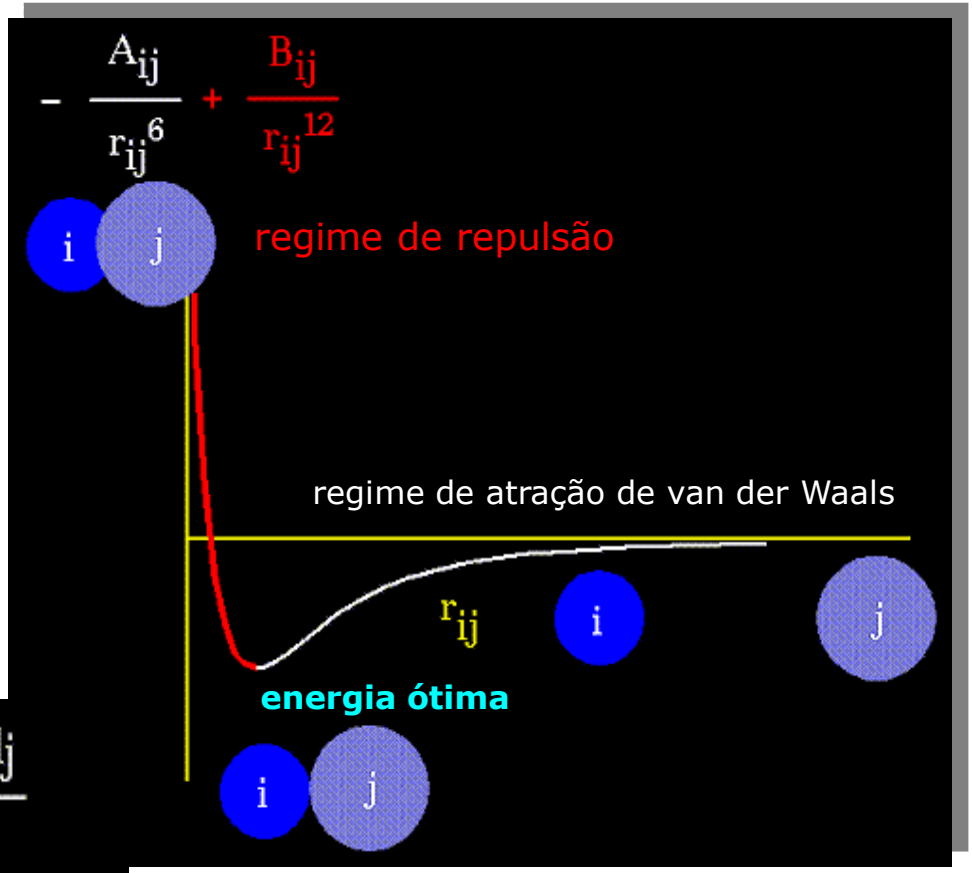
QSAR-2D (clássico): Os descritores são as constantes de grupos (Hammett, Taft, etc); ou parâmetros físico-químicos (solubilidade, etc),obtidos experimentalmente ou calculados.

Há versões "modernas" do QSAR-2D, como o HQSAR: representações 2D são decompostas em fragmentos de acordo com diferentes parâmetros de distinção; são gerados hologramas moleculares, considerando os tipos de fragmento, sua frequência e tamanho, que são correlacionados com a atividade biológica por métodos estatísticos.



QSAR-3D: CoMFA

QSAR-3D é uma relação matemática, estabelecida por métodos estatísticos, entre a atividade biológica (K_i, IC_{50}, etc) de um conjunto de moléculas e suas características estruturais 3D e químicas. No método CoMFA, essas características são expressas através de energias estéricas e eletrostáticas. Há alternativas (CoMSIA, ...).



$$S = \sum_i \sum_j \frac{-A_{ij}}{r_{ij}^6} + \frac{B_{ij}}{r_{ij}^{12}}$$

termo de van der Waals

$$E = \sum_i \sum_j \frac{q_i q_j}{r_{ij}}$$

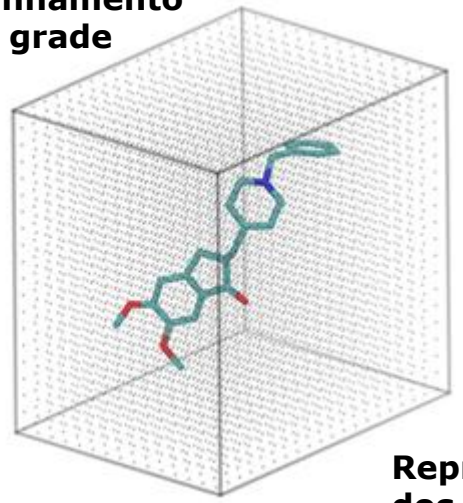
termo eletrostático

QSAR-3D: procedimento geral

Conjunto de dados de atividade X estrutura

Mol1, $(A.\ B.)_1$
Mol2, $(A.\ B.)_2$
Mol3, $(A.\ B.)_3$
.
.
.

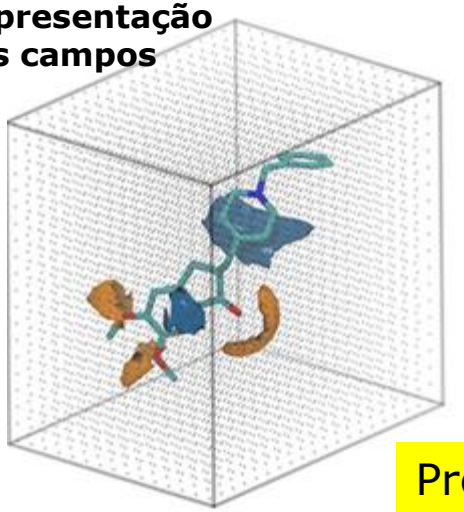
Alinhamento na grade



Geração de descritores (estéricos e eletrostáticos)

Mol1, d_{11}, d_{12} , d_{13}...
Mol2, d_{21}, d_{22} , d_{23}...
Mol3, d_{31}, d_{32} , d_{33}...
.
.
.

Representação dos campos



Geração de modelos de correlação por métodos estatísticos (PLS, PCA, ...)

Mol1, $(A.\ B.)_1$ X d_{11}, d_{12} , d_{13}...
Mol2, $(A.\ B.)_2$ X d_{21}, d_{22} , d_{23}...
Mol3, $(A.\ B.)_3$ X d_{31}, d_{32} , d_{33}...
.
.
.

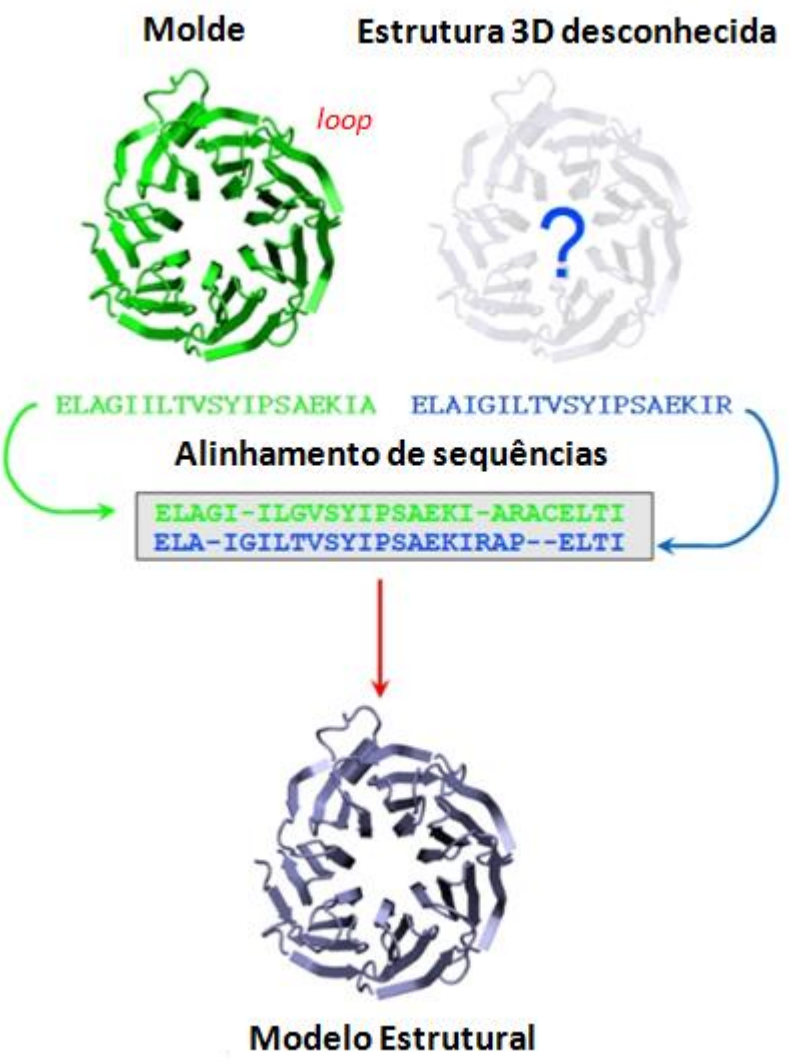
$$A.B. = K + aS + bS + ... + a'E + b'E + ...$$

Predição de atividade para novos compostos

SBDD: Modelagem de Proteínas

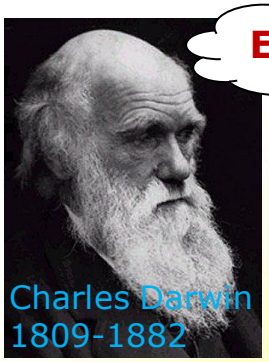
Etapas da Modelagem Comparativa (por Homologia)

1. Busca do molde a partir da sequência da proteína-alvo usando um algoritmo de similaridade. Ex.: *Blast* no *Swiss-Model.* (semelhança e resolução)
2. Alinhamento das sequências . Ex.: *ClustalW* e *T-Coffee* (problemas: inserções e deleções, *loops*).
3. O 'backbone' do alvo é construido sobre o do molde (Cα e ângulos ψ e ϕ).
4. Ajuste das cadeias laterais (bibliotecas de confôrmeros ajudam); eliminação de colisões (*clashes*)
5. Refinamento da estrutura por simples minimização de energia com mecânica molecular ou por dinâmica molecular.



SBDD: o método de *Docking*

O *docking* é uma técnica que permite a identificação rápida dos modos de interação entre um ligante e uma proteína.



Evolução...

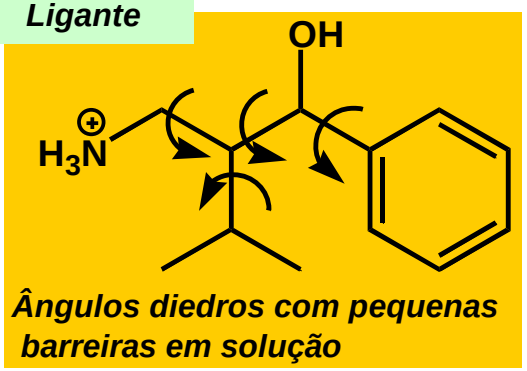
Estratégias de busca:
Algoritmo genético
Monte Carlo
Construção incremental
Métodos híbridos

AG: uma "máquina" para fazer evolução

Classificação do Ajuste das Poses

Métodos de campo de força;
Métodos empíricos;
Métodos baseados no conhecimento da estrutura.

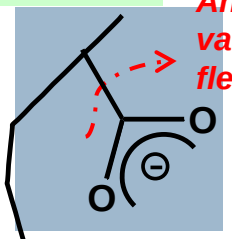
Ligante



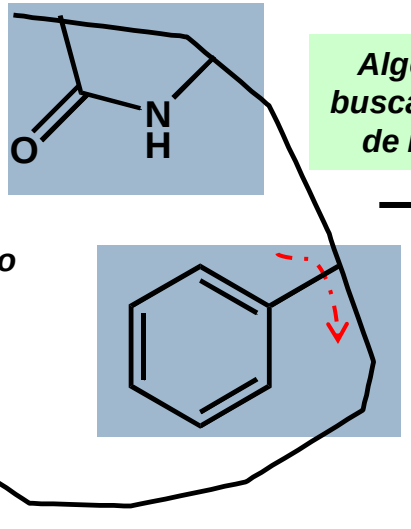
Ângulos diedros com pequenas barreiras em solução

+

Receptor



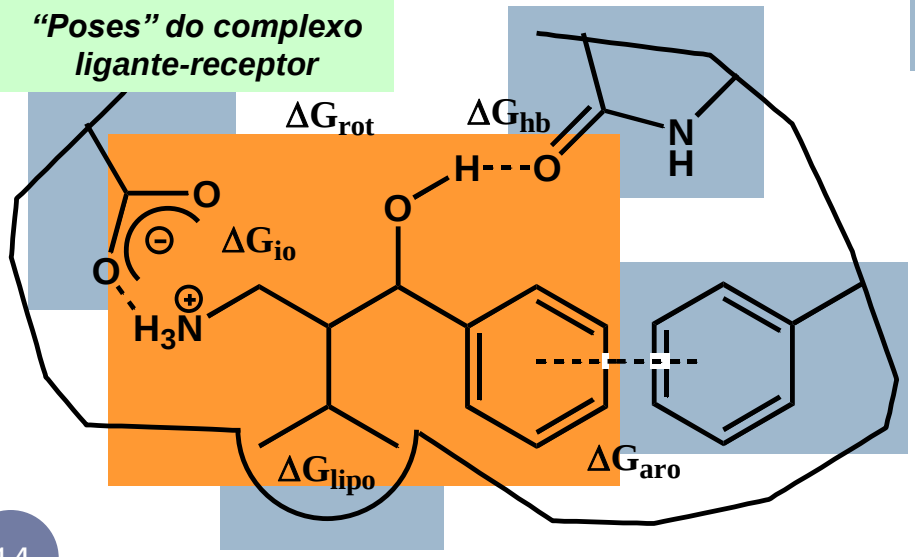
Ângulos diedros variados no docking flexível



Sítio de interação na proteína

Algoritmo de busca de modos de interação

"Poses" do complexo ligante-receptor

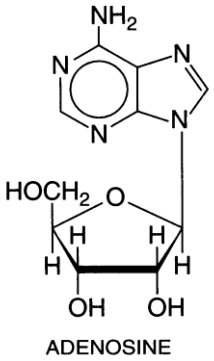


Classificação das "poses"

$$\Delta G_{int} = \Sigma \Delta G_i$$

$$\Delta G_{int} = \Delta G_{rot} + \Delta G_{hb} + \Delta G_{ion} + \Delta G_{aro} + \Delta G_{lipo} + \ldots$$

Valores usados diretamente ou para gerar outros valores comparativos (escores)



ADENOSINE

Docking em Receptores da Adenosina

4 subtipos de receptores:
A_1, A_{2A}, A_{2B}, A_3

Estrutura Cristalográfica do receptor A_{2A}

PDB **3EML** (cocristalizado com **antagonista** ZM241385)
PDB **2YDO** (cocristalizado com **agonista** adenosina)

Criação de modelos por homologia comparativa dos subtipos A_1, A_{2B} e A_3 utilizando como molde os PDBs **3EML** e **2YDO**

Avaliação quanto à capacidade do programa GOLD e dos modelos criados na identificação de compostos ativos

Compostos ativos (Ki < 10nM)
X
compostos inativos (Ki > 5μM)

Agonistas
X
Antagonistas

Triagem da quimioteca do LASSBio (108 compostos com diversidade estrutural)

Tesch, R., Dissertação de Mestrado, PPGQFM, 2013

Compostos ativos (Ki < 10nM)
versus
compostos inativos (Ki > 5μM)

Percentagem de predição de ligantes de alta afinidade

3EML	Funções de pontuação (Escores)			
Subtipo	*GoldScore*	*ChemScore*	*ASP*	*ChemPLP*
A_1 (Modelo)	50%	50%	40%	40%
A_{2A}	50%	40%	60%	50%
A_{2B} (Modelo)	50%	80%	70%	40%
A_3 (Modelo)	70%	40%	60%	60%

Percentagem de predição de ligantes de alta afinidade

2YDO	Funções de pontuação (Escores)			
Subtipo	*GoldScore*	*ChemScore*	*ASP*	*ChemPLP*
A_1 (Modelo)	30%	40%	30%	50%
A_{2A}	40%	40%	60%	40%
A_{2B} (Modelo)	60%	80%	50%	70%
A_3 (Modelo)	70%	50%	40%	60%

Agonistas
versus
Antagonistas

Percentagem de predição de agonistas

2YDO	Funções de pontuação (Escores)			
Subtipo	*GoldScore*	*ChemScore*	*ASP*	*ChemPLP*
A_{2A}	70%	30%	70%	70%
A_{2B} * (Modelo)	40%	30%	40%	20%
A_3 (Modelo)	80%	50%	40%	50%

Percentagem de predição de antagonistas

3EML	Funções de pontuação (Escores)			
Subtipo	*GoldScore*	*ChemScore*	*ASP*	*ChemPLP*
A_{2A}	30%	90%	50%	50%
A_{2B} * (Modelo)	40%	60%	40%	40%
A_3 (Modelo)	20%	70%	20%	20%

* Foram utilizados somente 5 agonistas e 5 antagonistas

C.M.R. Sant'Anna, 2014

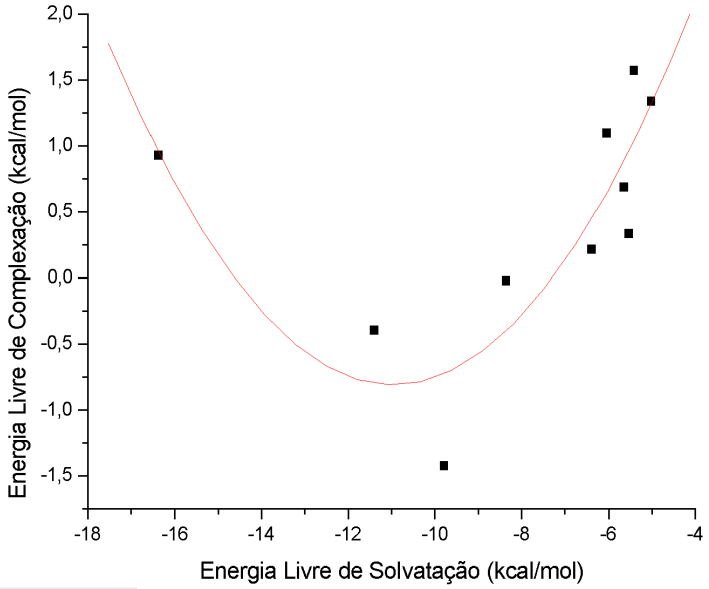
Melhorando o *Docking*: Modelos de energia por correlação empírica

$$L_{(aq)} + AChE_{(aq)} \overset{\Delta G_{int}}{\leftrightarrows} L \bullet AChE_{(aq)}$$

$$\uparrow\downarrow \Delta G_1 \qquad \uparrow\downarrow \Delta G_2 \qquad\qquad \uparrow\downarrow \Delta G_4$$

$$L_{(g)} + AChE_{(g)} \overset{\Delta G_3}{\leftrightarrows} L \bullet AChE_{(g)}$$

$$\Delta G_{\text{int}} = RT \ln K_i$$

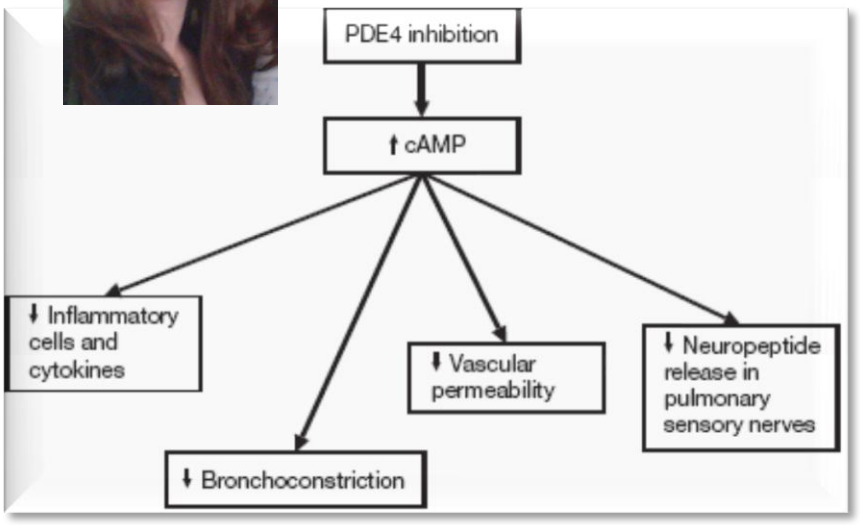


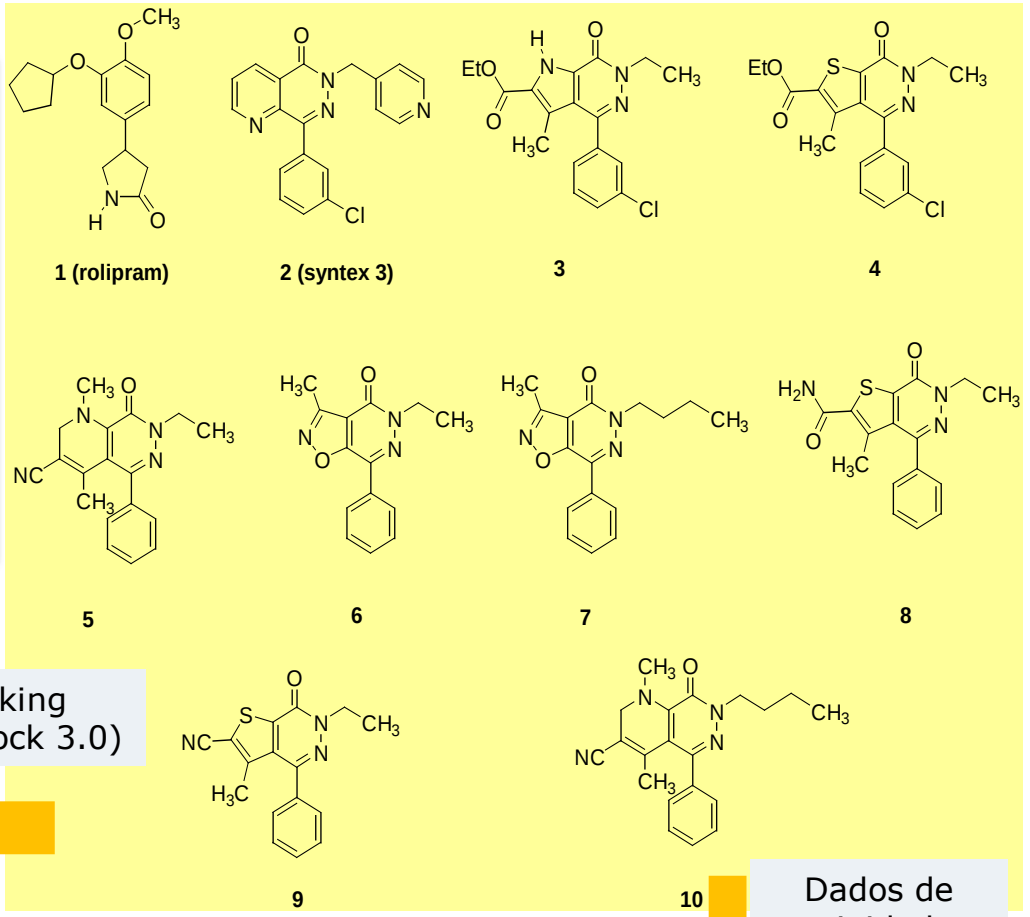
$$RT \ln K_i = c_1 \left(\Delta G_{solv} + c_2\right)^2 + c_3 \Delta H_{bind} + c_4 N_{LR} + c_5$$

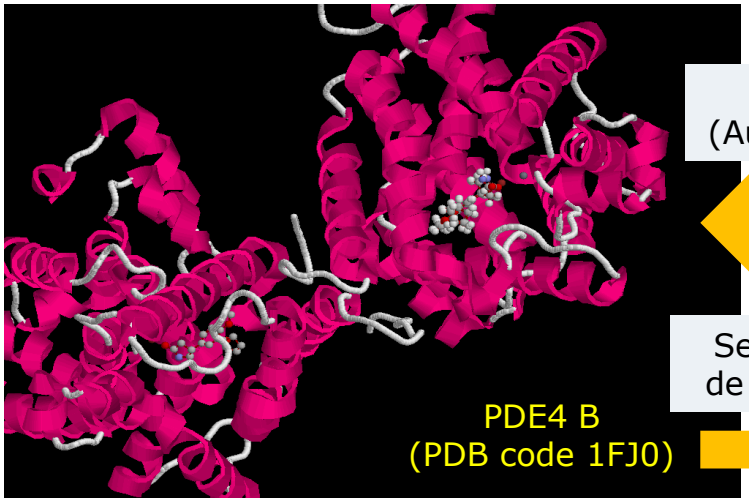
$$\Delta H_{bind} = \Delta H_{comp} - \left[\Delta H_{sa} + \Delta H_{lig}\right]$$

N_{LR}: termo entrópico associado à perda de rotação em ligações após associação do ligante ao sítio ativo

Exemplo: previsão da atividade de inibidores da PDE4







Docking (Autodock 3.0)

Seleção de poses

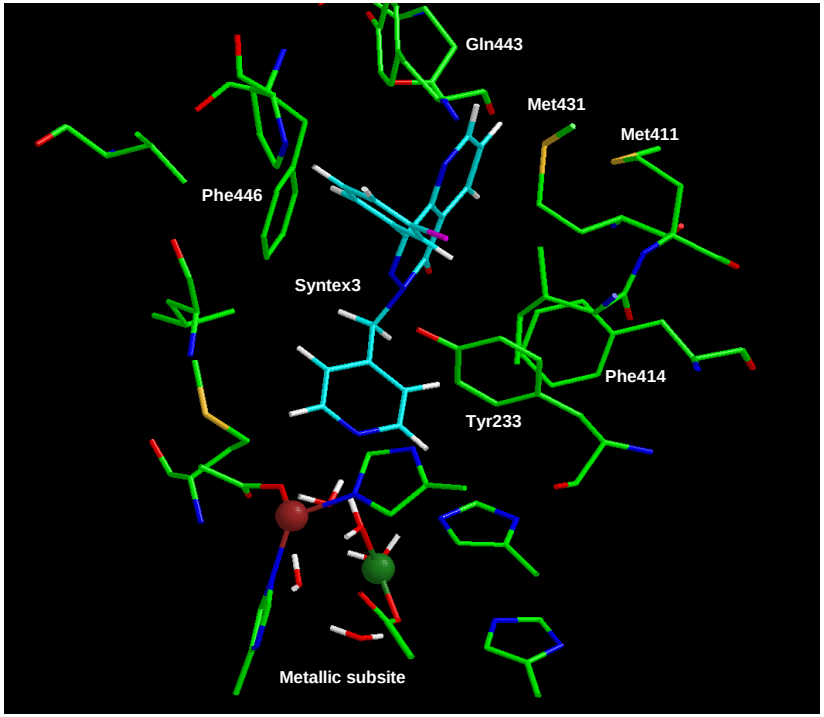
Cálculos semi-empíricos (Mopac, PM3) para determinação de ΔH_{int}

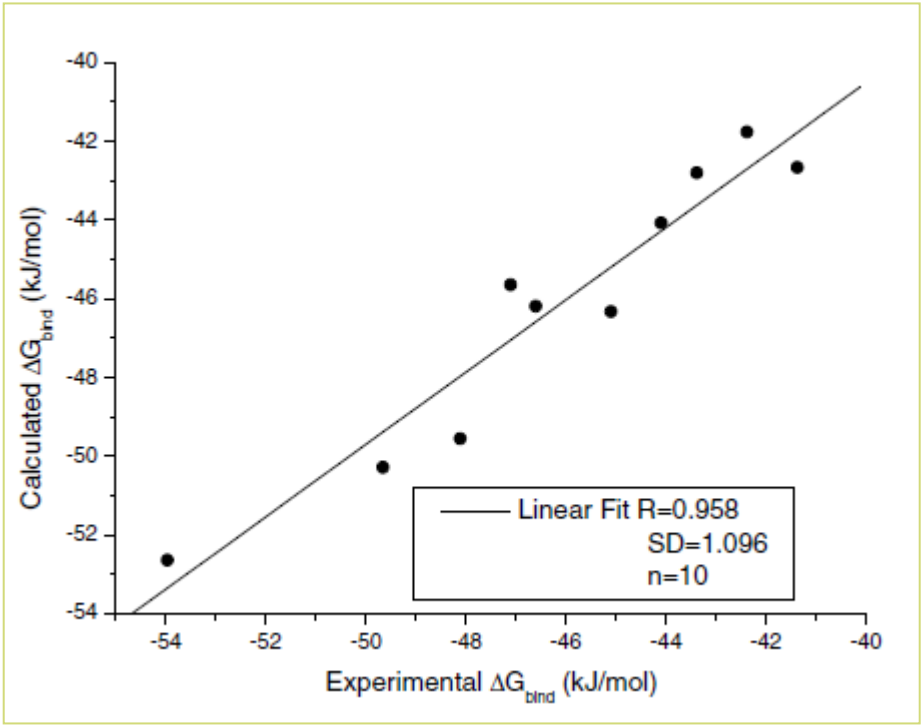
Dados de atividade (Ki)*

Construção de modelos

*DAL PIAZ et al. , Eur. J. Med. Chem., 33, 789-797, 1998

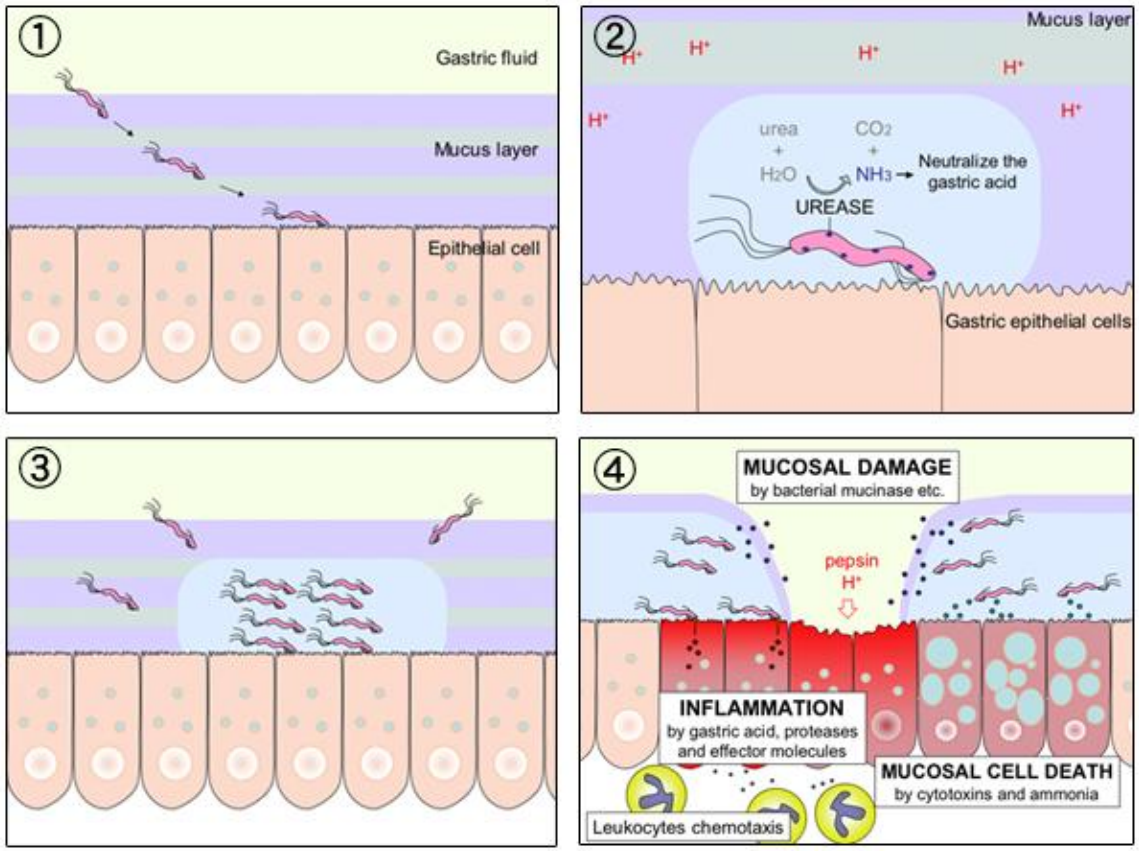
Molecule	ΔH_{int} [a] (kJ/mol)	N_{RB} [b]	ΔG_{solv} [c] (kJ/mol)	ΔG [d] (kJ/mol)	ΔG_{exp} [e] (kJ/mol)
1 (*R*-rolipram)	−118.53	4	−47.70	−50.28	−49.66
2 (syntex3)	−113.18	2	−40.96	−52.64	−53.97
3	−109.08	3	−34.94	−49.55	−48.12
4	−113.43	4	−26.74	−45.64	−47.11
5	−94.14	1	−23.14	−46.19	−46.61
6	−66.78	1	−22.68	−42.66	−41.38
7	−80.21	2	−21.00	−41.76	−42.38
8	−110.71	3	−68.53	−44.07	−44.10
9	−69.37	2	−25.31	−42.79	−43.39
10	−118.95	3	−23.64	−46.33	−45.10





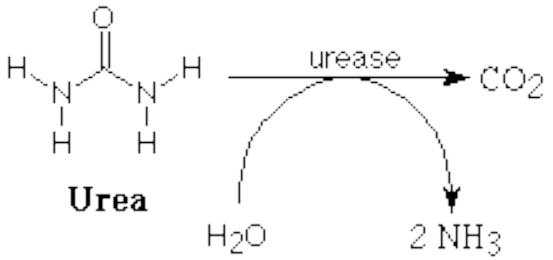
$$\Delta G = 0.012(\Delta G_{solv} + 44.95)^2 + 0.12\Delta H_{int} + 1.55N_{RB} - 42.38$$

Exemplo: Inibidores da Urease



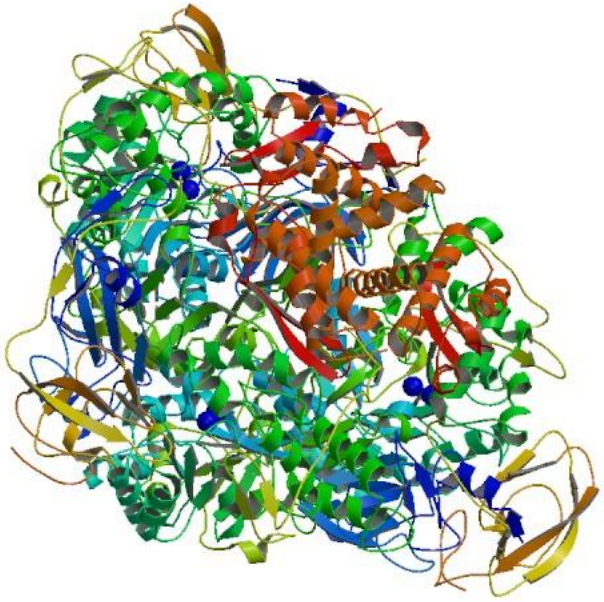
A inibição da urease tem importância na agricultura, porque reduz as perdas de fertilizantes nitrogenados.

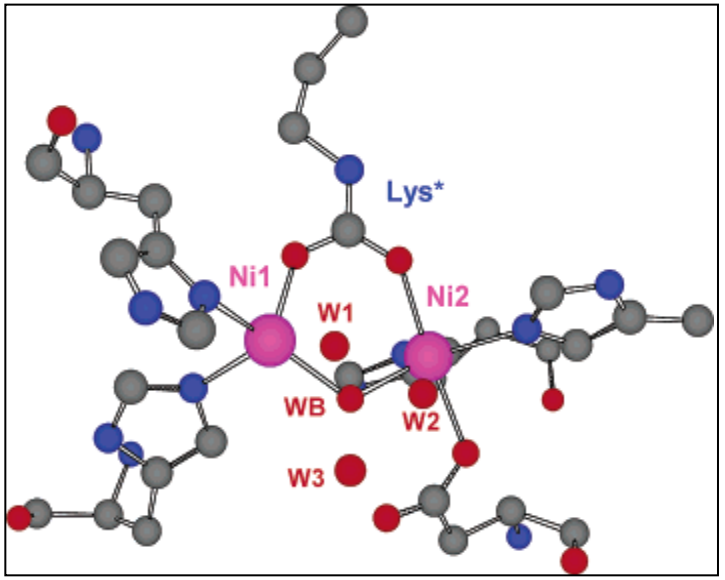
Indivíduos infectados com *H. pylori* têm 10 a 20% de risco de desenvolver úlceras pépticas e 1 a 2% de risco de desenvolver câncer estomacal.

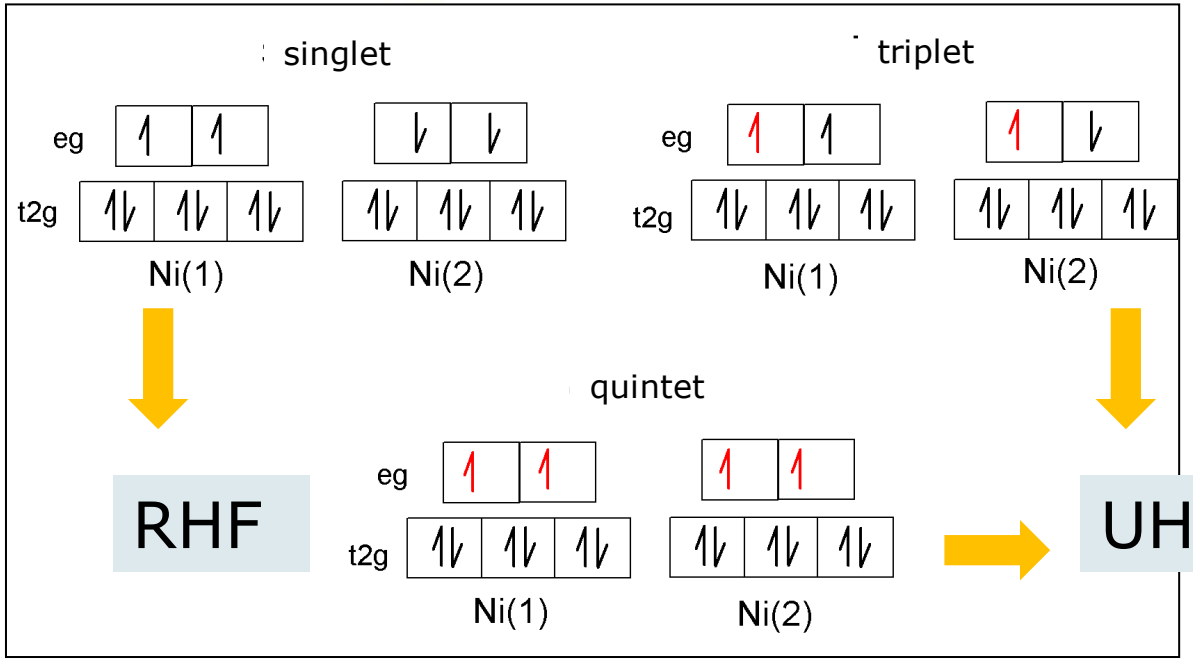


H. Pylori neutraliza o ácido estomacal produzindo grandes quantidades de urease, que catalisa a hidrólise da ureía presente no estômago, produzindo amônia e dióxido de carbono.

C.M.R. Sant'Anna, 2014



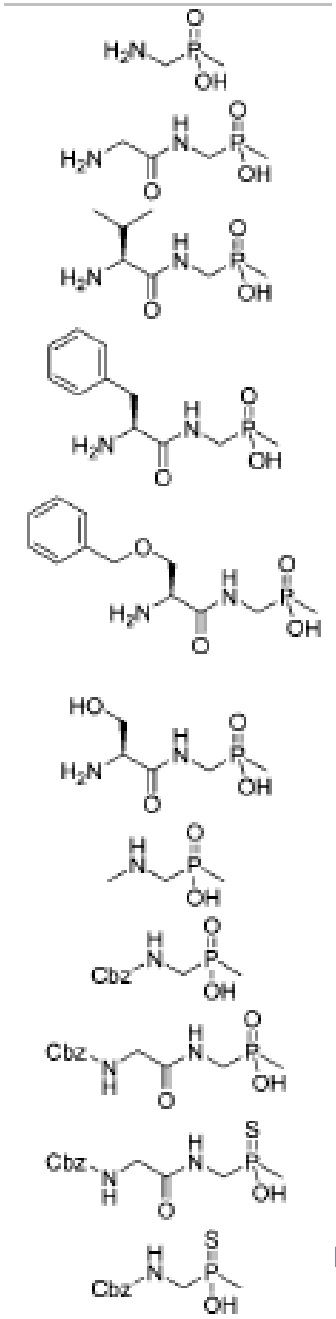




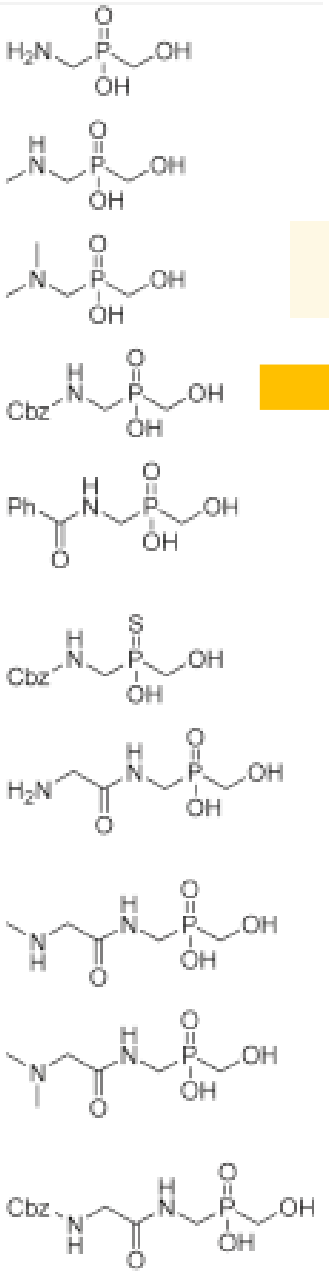
C.M.R. Sant'Anna, 2014

$$\Delta H_{\text{int}} = \Delta H_{E-I} + \Delta H_{HO} - (\Delta H_{E-HO} + \Delta H_{I})$$

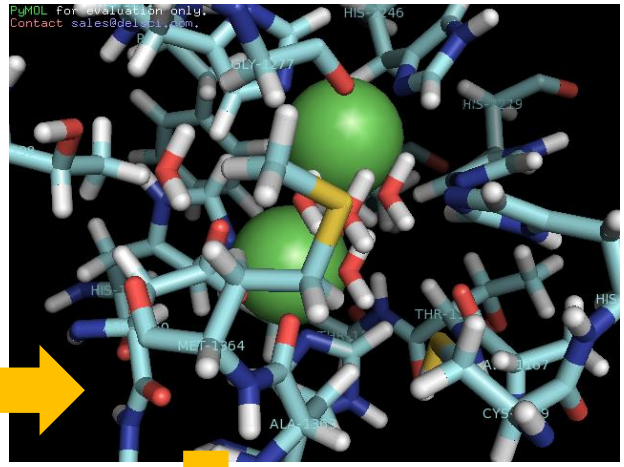
Série 1



Série 2



Docking (GOLD 5.2)



Seleção de poses

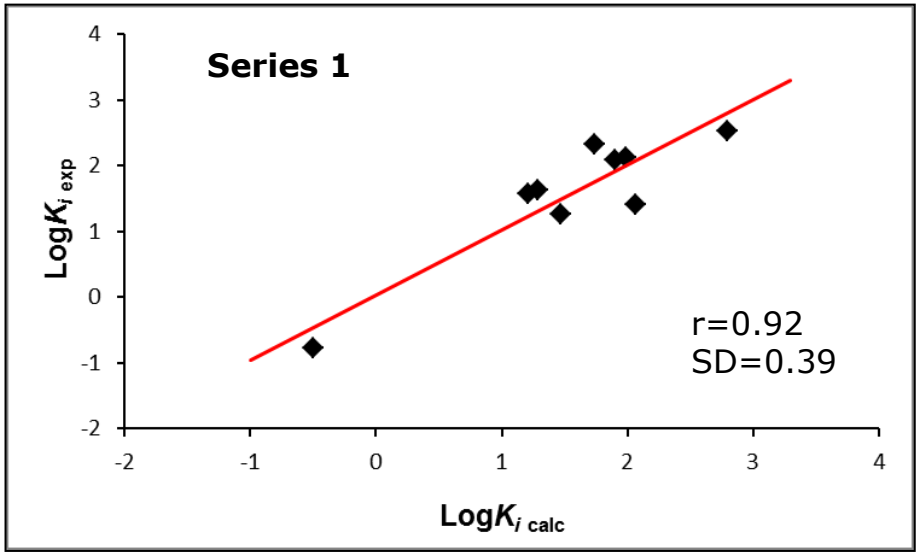
Termos de solvatação e de perda entrópica

Cálculos semi-empíricos (Mopac, PM6, UHF) para determinação de ΔH_{int}

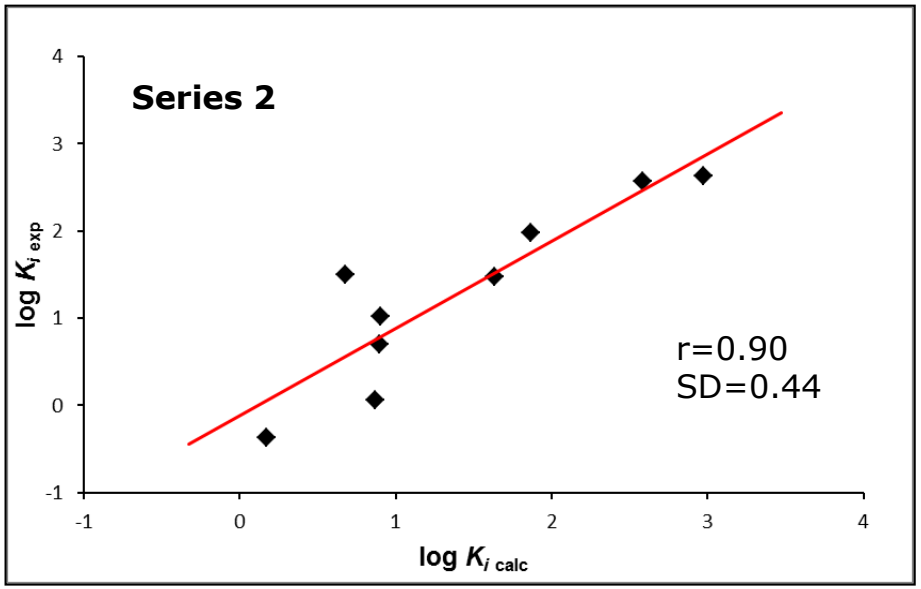
Dados de atividade (Ki)*

Construção de Modelos

*VASSILIOU, S. et al. J. Med. Chem., 53 , 5597–5606. 2010.
*VASSILIOU, S. et al. J. Med. Chem. 1, 5736-5744. 2008.



$$\log K_i = -1.62(\Delta G_1 + 0.38)^2 + 0.02\Delta H_{\text{int}} + 0.12 N_{LR} + 2.18$$



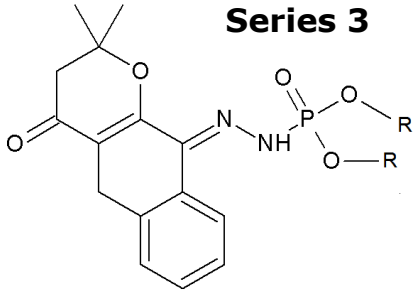
$$\log K_i = 5.018(\Delta G_1 + 0.271)^2 + 0.002\Delta H_{\text{int}} + 0.29 N_{LR} + 0.042$$

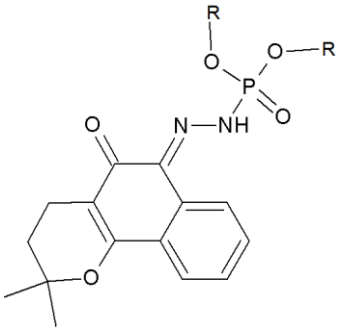
Comp.	log$K_{i\ exp}$	log$K_{i\ calc}$	ΔlogK_i
1	2.53	2.79	-0.26
3	2.08	1.91	0.17
4	2.33	1.74	0.59
5	1.40	2.06	-0.66
6	1.57	1.21	0.35
7	1.26	1.47	-0.21
8	1.63	1.29	0.34
9	2.13	1.99	0.14
10	-0.77	-0.50	-0.27
12	1.98	1.86	0.11
13	-0.37	0.17	-0.54
14	0.70	0.90	-0.20
15	1.48	1.64	-0.16
16	1.02	0.90	0.12
17	0.06	0.87	-0.81
19	1.50	0.68	0.82
20	2.57	2.59	-0.02
21	2.63	2.97	-0.34

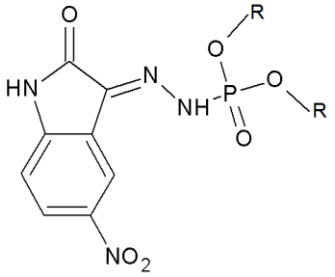
Rocha, S. L., UFRRJ, 2014

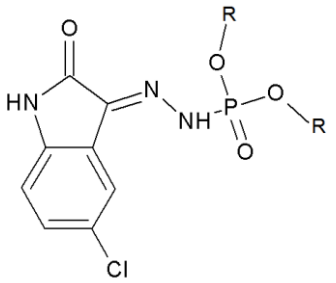
C.M.R. Sant'Anna, 2014

Series 3

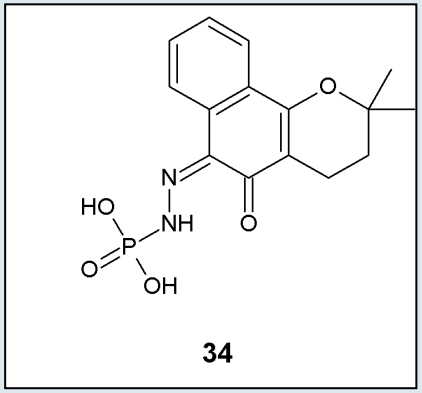








Comp.	$[-1.62(\Delta G_1 + 0.38)^2]$	$0.02\Delta H_{int}$	$0.12N_{LR}$	$\log K_{i\ calc}$
22	-2.20	1.33	0.48	1.79
23	-5.10	3.53	0.24	0.84
24	-2.40	3.36	0.24	3.38
25	-0.67	1.82	0.72	4.05
26	-1.30	0.70	0.24	1.82
27	-0.54	1.24	0.24	3.12
28	-1.69	1.14	0.24	1.87
29	-0.14	1.87	0.24	4.15
30	-0.55	-0.46	0.00	1.17
31	-0.54	2.04	0.00	3.68
32	-0.38	3.27	0.00	5.07
33	-0.12	1.72	0.00	3.77



34

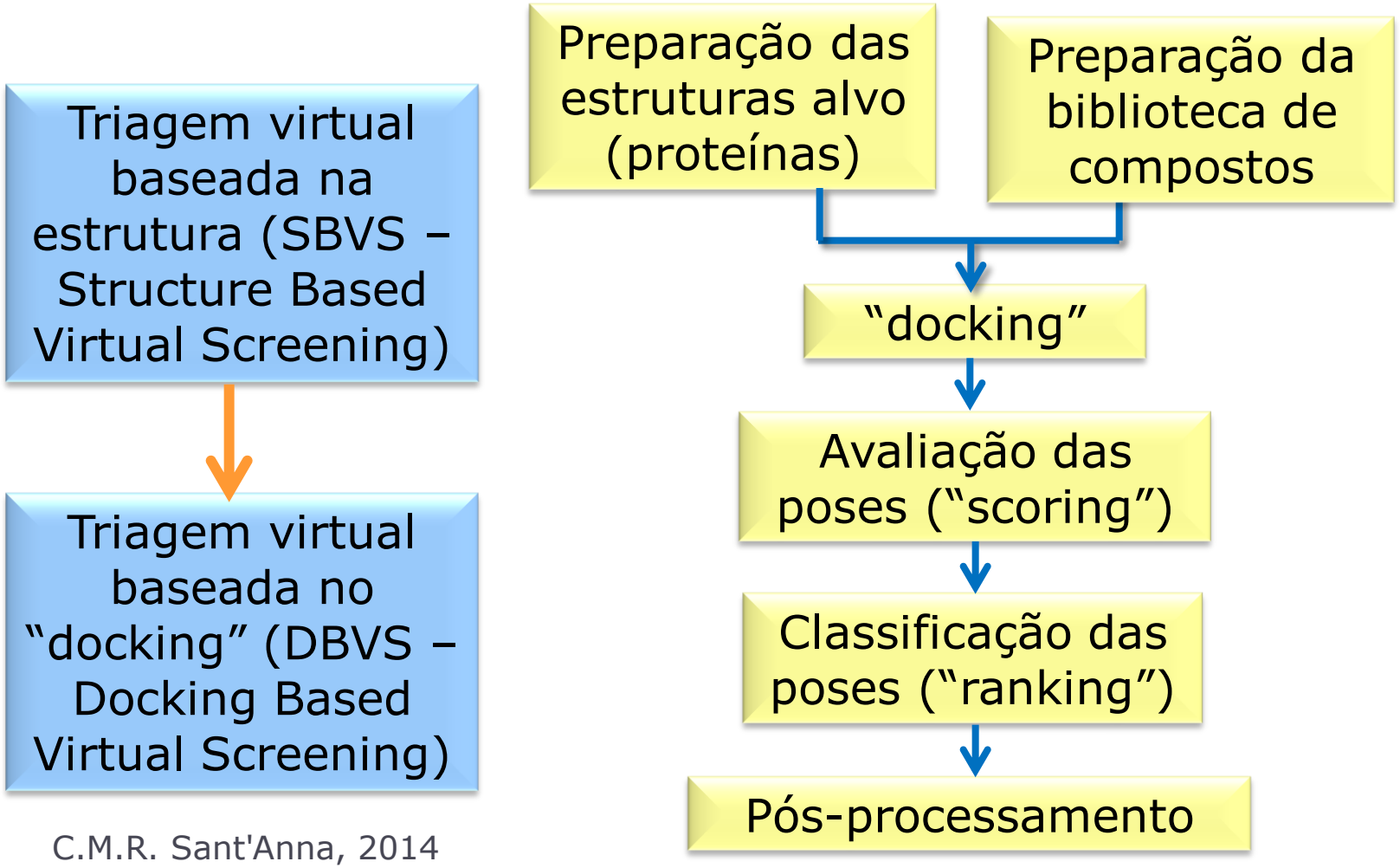
Comp.	$[-1.62(\Delta G_1 + 0.38)^2]$	$0.02\Delta H_{int}$	$0.12N_{LR}$	$\log K_{i\ calc}$
34	-0.59	-5.06	0.00	-3.47

R = *n-propyl, isopropyl, n-butyl, isobutyl*

C.M.R. Sant'Anna, 2014

Rocha, S. L., UFRRJ, 2014
Gonçalves, V. T., UFRRJ, 2014

Triagem Virtual Baseada no “Docking”

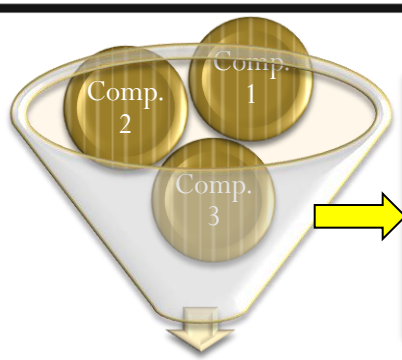


C.M.R. Sant'Anna, 2014

Seleção de Compostos para o DBVS

Database	Type	No. of compounds[a]	Website
PubChem	Public	30 million	http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov
ChEMBL	Public	1 million	https://www.ebi.ac.uk/chembldb/index.php
NCI Set	Public	140,000	http://dtp.nci.nih.gov/index.html
ChemSpider	Public	26 million	http://www.chemspider.com
CoCoCo	Public	7 million	http://cococo.unimore.it/tiki-index.php
TCM	Public	32,000	http://tcm.cmu.edu.tw
ZINC	Public	13 million	http://zinc.docking.org
ChemBridge	Commercial	700,000	http://www.chembridge.com
Specs	Commercial	240,000	http://www.specs.net
Asinex	Commercial	550,000	http://www.asinex.com
Enamine	Commercial	1.7 million	http://www.enamine.net
Maybridge	Commercial	56,000	http://www.maybridge.com
WOMBAT	Commercial	263,000	http://www.sunsetmolecular.com
ChemDiv	Commercial	1.5 million	http://www.chemdiv.com
ChemNavigator	Commercial	55.3 million	http://www.chemnavigator.com
ACD	Commercial	3,870,000	http://accelrys.com/products/databases/sourcing/available-chemicals-directory.html
MDDR	Commercial	150,000	http://accelrys.com/products/databases/bioactivity/mddr.html

Bibliotecas:
Próprias
Públicas
Comerciais

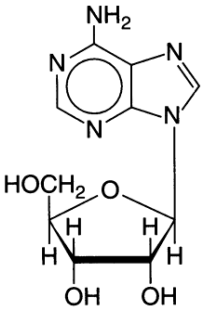


Comp. 2

Enriquecimento de Bibliotecas (filtragem):
Filtros físico-químicos e/ou farmacológicos (ex.: solubilidade, Lipinski, ADME/Tox)
Filtros de similaridade c/ compostos ativos conhecidos
Filtros baseados no alvo

C.M.R. Sant'Anna, 2014

Exemplo 3: DBVS aplicado aos receptores A_{2A}



Adenosina

4 subtipos de receptores: A_1, A_{2A}, A_{2B}, A_3

Sequência primária do receptor A_{2A}

Modelagem comparativa

MOE

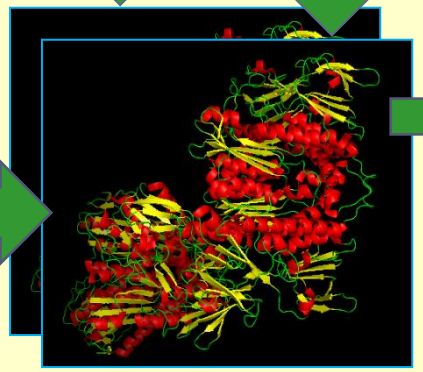
Modeller

Docking

Banco de dados inicial

545.000 compostos

Glyde



372 compostos

Disponibilidade comercial

230 compostos

Binding no receptor A_{2A}

20 "hits" IC_{50} < 55 μM

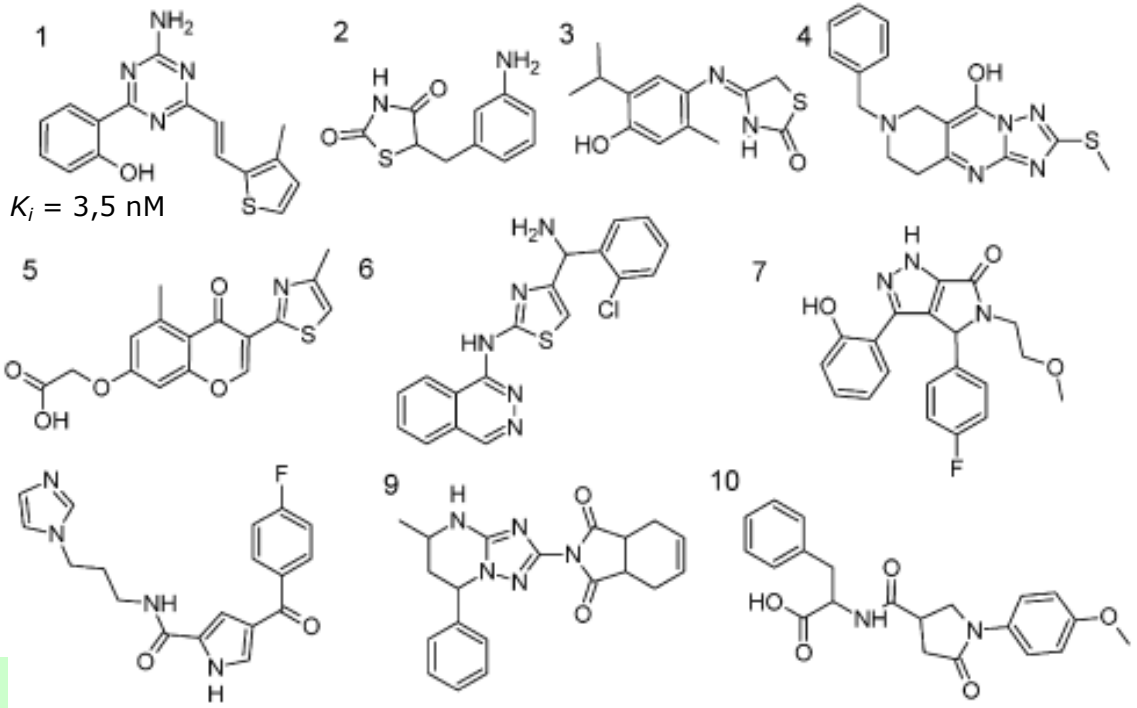
Otimização estrutural baseada nos resultados do "docking" de "hits" selecionados

Filtragem:
1.Propriedades adequadadas ao CNS;
2. Ausencia de furano ou xantina

Langmead et al., *J. Med. Chem.* 2012, 55, 1904−1909

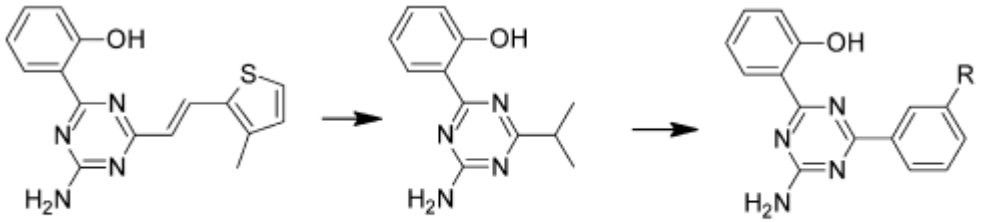
Top 10 Hits

hit	pK_I	LE	LLE	clogP
1	8.46	0.52	5.4	3.1
2	5.15	0.47	4.5	0.7
3	5.75	0.44	3.9	1.9
4	6.15	0.36	3.2	3.0
5	5.65	0.33	3.7	1.9
6	5.62	0.31	2.6	3.0
7	5.91	0.30	3.2	2.7
8	5.33	0.29	3.4	1.9
9	5.70	0.29	3.9	1.8
10	5.53	0.27	2.1	3.4



K_i = 3,5 nM

Otimização estrutural do composto **1**



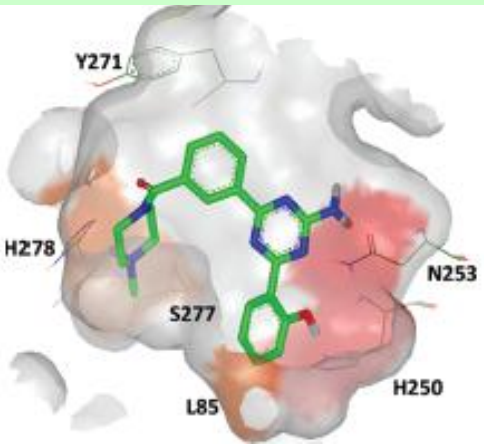
1 A_{2A} pK_I 8.46 **14** A_{2A} pK_I 7.91

R = R =

K_i = 0,1 nM K_i = 1,6 nM

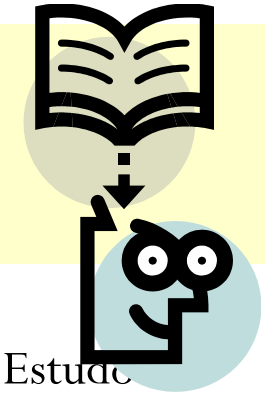
15 A_{2A} pK_I 8.99 **16** A_{2A} pK_I 8.80

"Docking" do composto **15** (Biophysical Mapping)



Langmead et al., *J. Med. Chem.* 2012, 55, 1904−1909

Bibliografia Indicada



Para quem está começando hoje:

- SANT'ANNA, C. M. R., Métodos de Modelagem Molecular para Estudo e Planejamento de Compostos Bioativos: Uma Introdução. Revista Virtual de Química, 1, 49 - 57, 2009.
- SANT'ANNA, C. M. R., Glossário de Termos Usados no Planejamento de Fármacos (Recomendações da IUPAC para 1997). Química Nova. , v.25, p.505 - 512, 2002.

Para quem quer saber mais:

- Molecular Modelling: Principles and Applications (A. Leach)
- Introduction to Computational Chemistry (F. Jensen)
- Computational Chemistry using the PC (D. W. Rogers)
- Computational Chemistry (D. C. Young)
- Introdução à Química Computacional (L. Alcácer)
- Molecular Modeling: Basic Principles and Applications (H. D. Holtje)

Programas: http://www.click2drug.org/

Agradecimentos

CAPES, CNPq, INCT-INOFAR, Faperj

Dr. João Batista N. Costa (PPGQ/UFRuralRJ)

Dr. Anivaldo X. da Silva (PPGQ/UFRuralRJ)

Dra. Catarina N. del Cistia (PPGQ/UFRuralRJ)

Dra. Aurea Echevarria (PPGQ/UFRuralRJ)

Dra. Camila S. Magalhães(PPGMMC/UFRuralRJ e UFRJ)

Dra. Rosane N. Castro (PPGQ/UFRuralRJ)

Dra. Clarissa O. Silva (PPGQ/UFRuralRJ)

Dr. Marco E. F. Lima (PPGQ/UFRuralRJ)

Dr. Arthur E. Kümmerle (PPGQ/UFRuralRJ)

Dr. Laurent E. Dardenne (LNCC)

Dr. Eliezer Barreiro (PQ/LASSBio/UFRJ)

Orientações e supervisões concluídas

Dissertações de mestrado : orientador principal

1. José Geraldo Rocha Júnior. 2009. Dissertação (Química) - UFRRJ
2. Daniel Rosa da Silva. 2009. Dissertação (Química) – UFRRJ
3. Sheisi Fonseca Leite da Silva. 2014. Dissertação (Química) UFRRJ

Dissertações de mestrado : co-orientador

1. Roberta Tesch. 2013. Dissertação (Farm. e Q. Medicinal) - UFRJ
2. Suzana Vieira da Silva. 2009. Dissertação (Química) - UFRRJ
3. Rodney Santos. 2006. Dissertação (Química) - UFRRJ
4. Fernanda G. Oliveira. 2005. Dissertação (Química) - UFRJ
5. Monique Araújo de Brito. 2004. Dissertação (Química) - UFRJ

Teses de doutorado : orientador principal

1. Catarina de Nigris Del Cistia. 2010. Tese (Química) - UFRRJ
2. Anivaldo Xavier de Souza. 2008. Tese (Química) - UFRRJ
3. Ana Cristina S. dos Santos. 2002. Tese (Química) – UFRRJ
4. Daniel Rosa da Silva. 2014. Tese (Química) – UFRRJ

Teses de doutorado : co-orientador

1. Janaína Marques R. Caixeiro. 2007. Tese (Química) - UFRRJ
2. Marco Antônio Soares de Souza. 2007. Tese (Química) - UFRRJ

Iniciação científica

1. Carlos Davi da Silva Lima. 2012. IC (Química) - UFRRJ
2. Sheisi Fonseca Leite da Silva. 2011. IC (Eng. Química) - UFRRJ
3. Bruno Benedito Spolidoro. 2010. IC (Eng. Alimentos) - UFRRJ
4. José Geraldo Rocha Júnior. 2007. IC (Química) - UFRRJ
5. Nailton Monteiro do Nascimento Jr. 2005. IC (Química) - UFRRJ
6. Andrea S Viana. 2001. IC (Química) - UFRRJ
7. Deogenes Santos de Andrade. 2000. IC (Eng. Química) - UFRRJ

Supervisão de pós-doutorado

1. Catarina de Nigris Del Cistia. 2012. UFRRJ
2. Andressa Esteves-Souza. 2010. UFRRJ

Orientações e supervisões em andamento

Dissertações de mestrado : co-orientador

1. Diogo S. G. Pinho. 2012. Dissertação (PPGMMC) UFRRJ

Teses de doutorado : orientador principal

1. Francis Barbosa Ferreira. 2012. Tese (Química) – UFRRJ
2. Sheisi Fonseca Leite da Silva. 2014. Dissertação (Química) UFRRJ

Dissertações de Doutorado : co-orientador

1. Roberta Tesch. 2013. Dissertação (Farmacologia e Química Medicinal) - UFRJ

Iniciação científica

1. Larissa Henriques E. Castro. 2011. IC (Química) - UFRRJ.
2. Marcus Vinicius Hungaro Faria. 2010. IC (Química) - UFRRJ

C.M.R. Sant'Anna, 2014

C.M.R. Sant'Anna, 2013

C.M.R. Sant'Anna, 2014