



# Modulação Metabólica Através de Ligantes do Receptor PPAR $\gamma$

Alessandro S. Nascimento – UFABC

11/05/2010



# Diabetes Melito

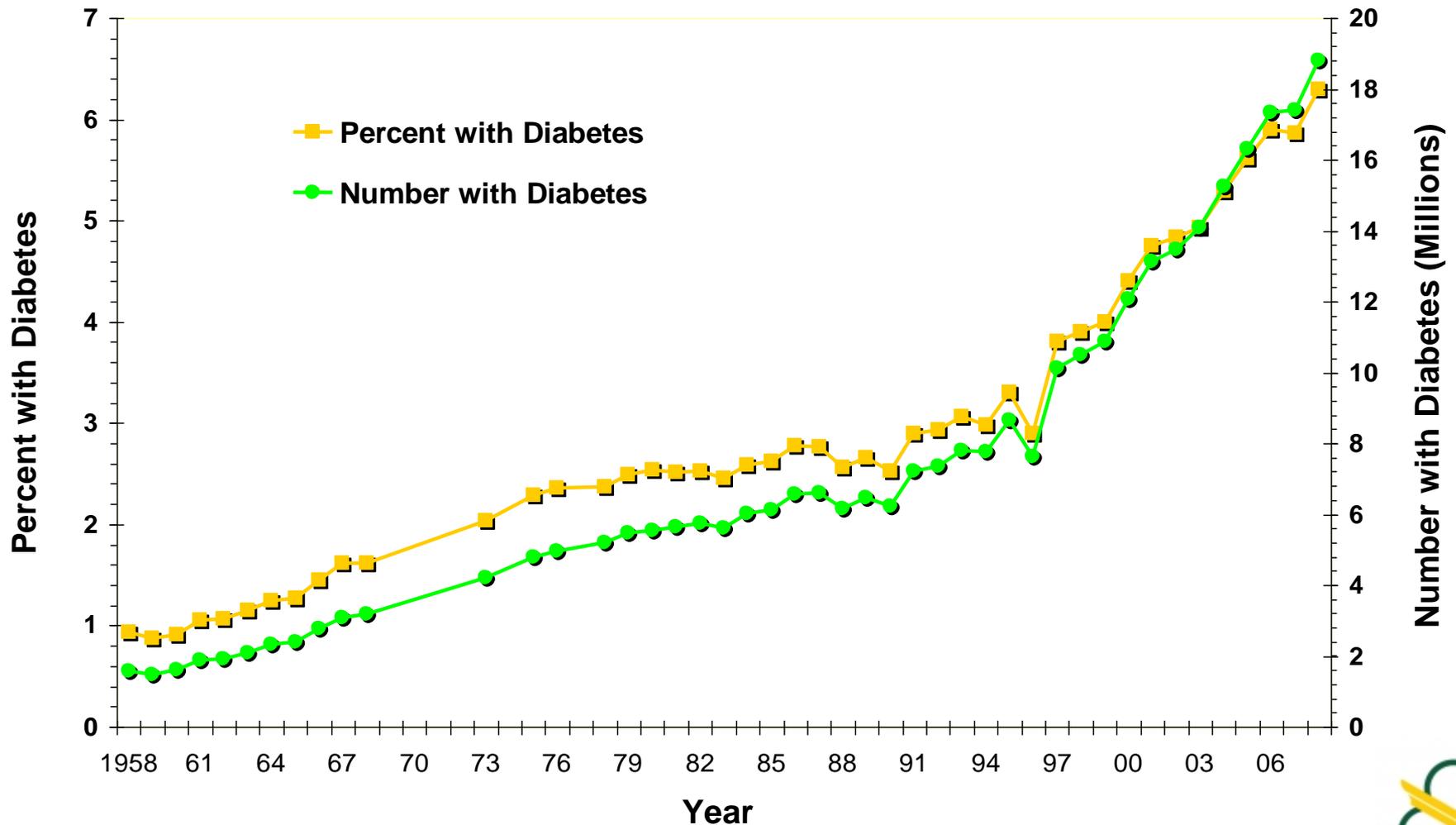
- Diabetes melito:
  - Grupo de doenças caracterizadas por níveis elevados de glicose sangüínea.
    - Insuficiência renal, perda da visão, amputações de membros, vasculites, etc.
  - Tipo I;
  - Tipo II;
  - Gestacional;
- OMS ([www.who.int/diabetes](http://www.who.int/diabetes)):
  - 220 milhões de pessoas;
  - 1.1 milhão de mortes em 2005.
  - A expectativa é de que este número duplique entre 2005 e 2030.
  - 80% dos pacientes acometidos estão em países em desenvolvimento.





# Diabetes Melito

- EUA: 1958-2008



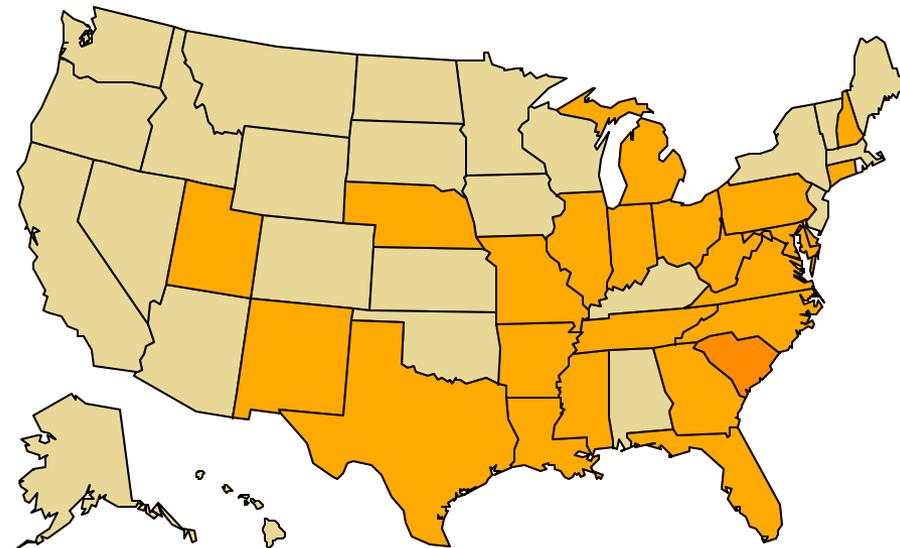
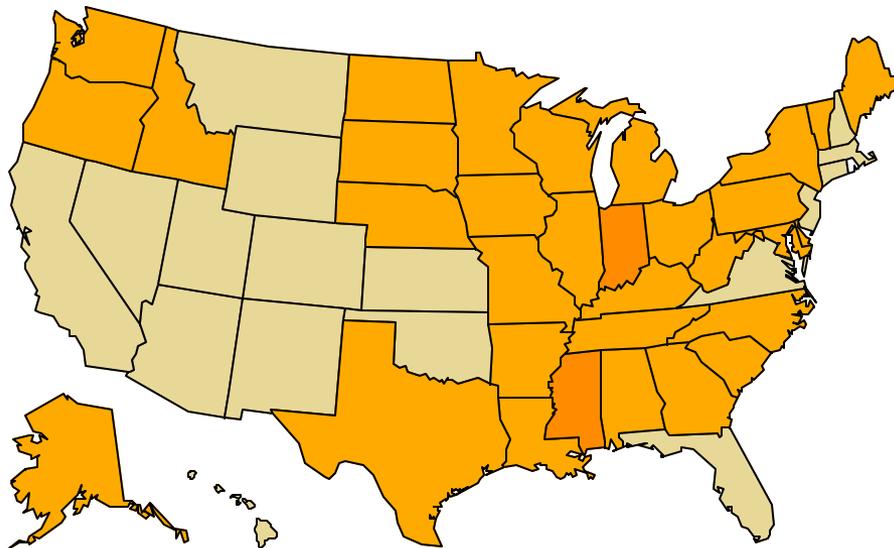


# Percentual de Adultos Obesos ou com Diabetes Diagnosticado (EUA) - Fonte: [www.cdc.gov](http://www.cdc.gov)

## 1994

### Obesidade (IMC $\geq 30$ kg/m<sup>2</sup>)

### Diabetes



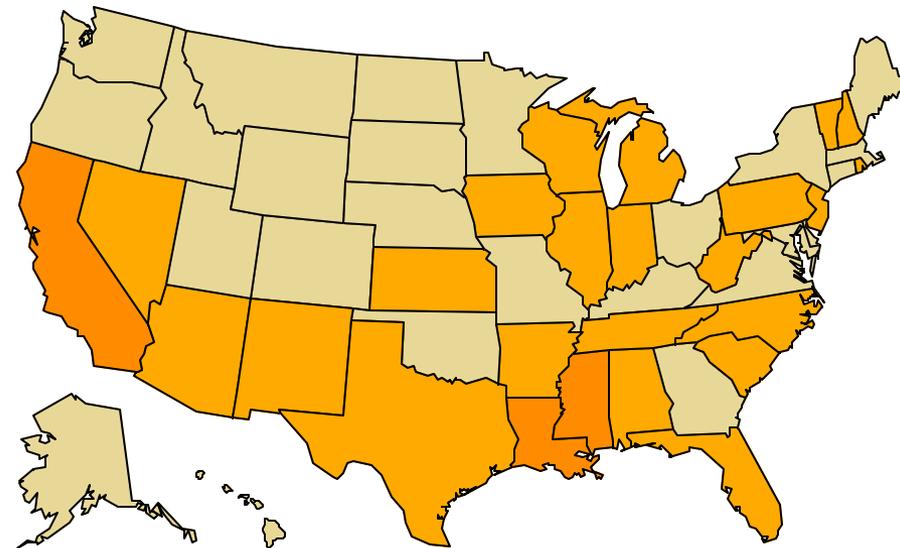
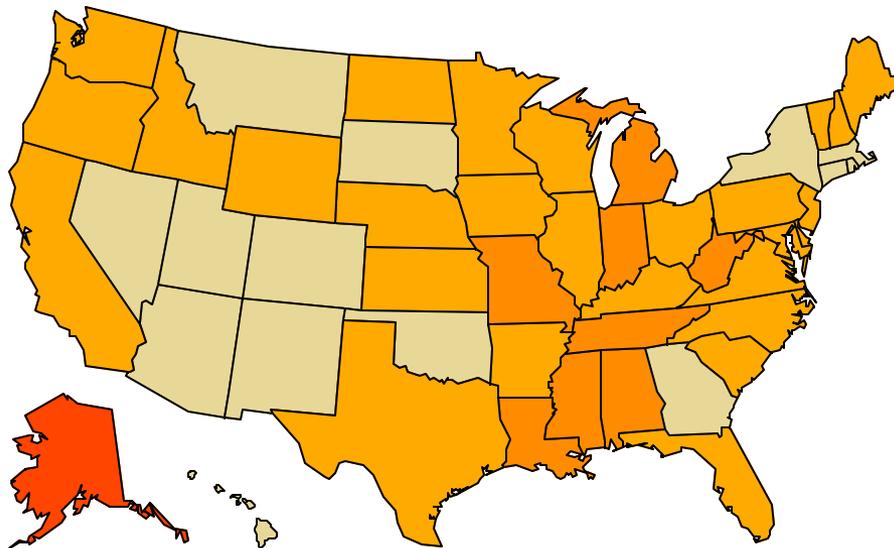


# Percentual de Adultos Obesos ou com Diabetes Diagnosticado (EUA) - Fonte: [www.cdc.gov](http://www.cdc.gov)

## 1995

### Obesidade (IMC $\geq$ 30 kg/m<sup>2</sup>)

### Diabetes



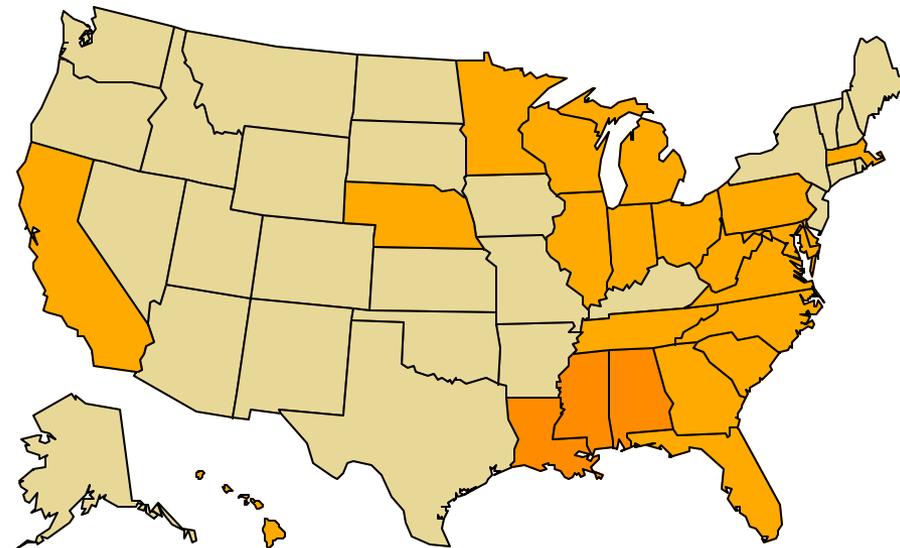
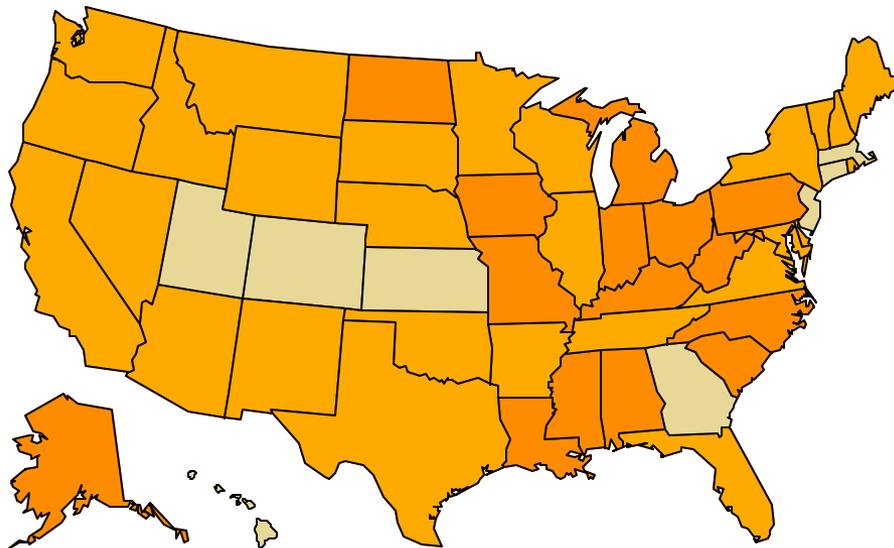


# Percentual de Adultos Obesos ou com Diabetes Diagnosticado (EUA) - Fonte: [www.cdc.gov](http://www.cdc.gov)

## 1996

### Obesidade (IMC $\geq$ 30 kg/m<sup>2</sup>)

### Diabetes



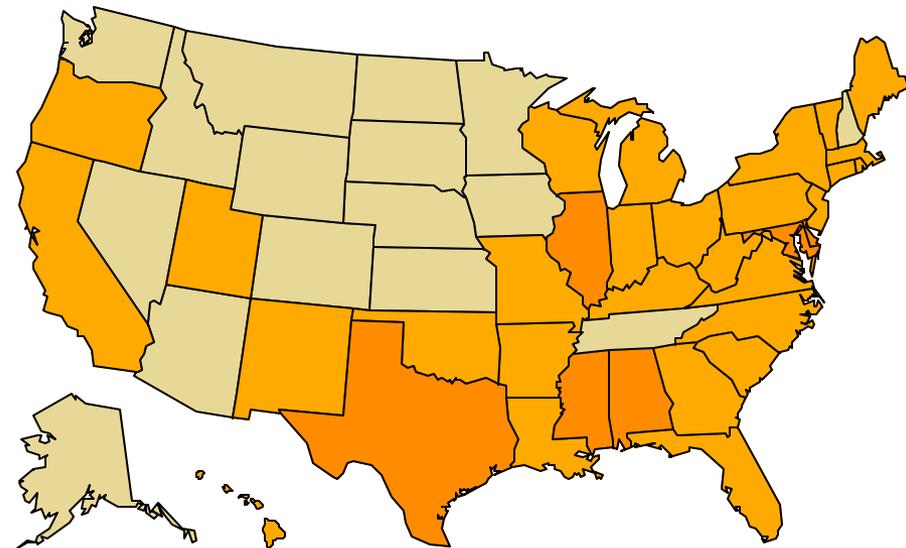
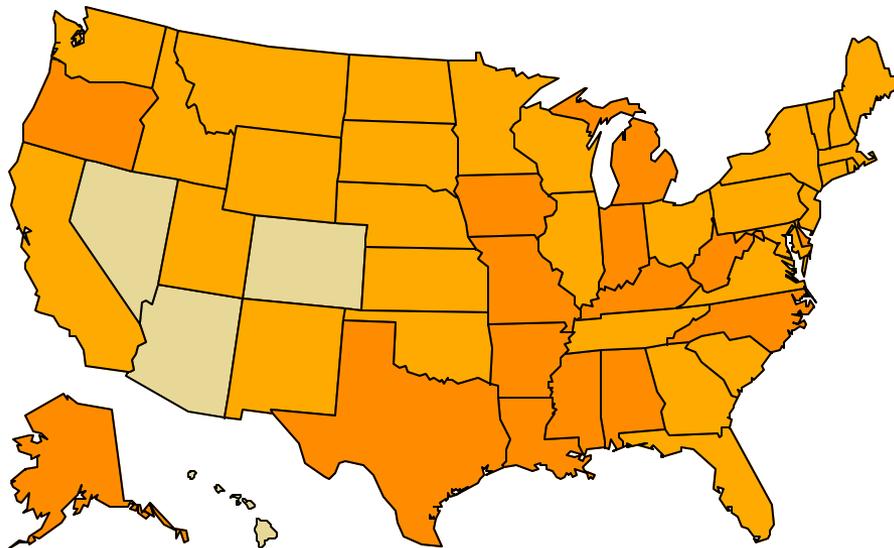


# Percentual de Adultos Obesos ou com Diabetes Diagnosticado (EUA) - Fonte: [www.cdc.gov](http://www.cdc.gov)

## 1997

Obesidade (IMC  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup>)

Diabetes



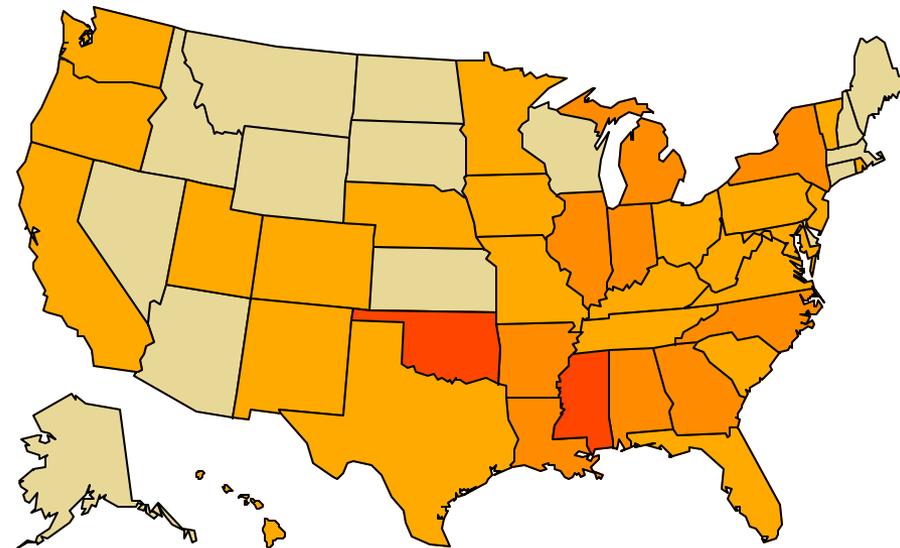
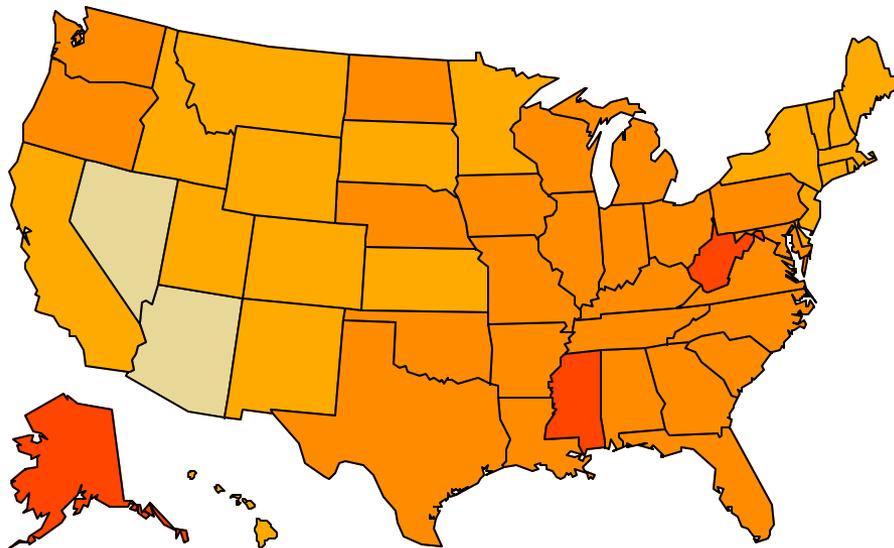


# Percentual de Adultos Obesos ou com Diabetes Diagnosticado (EUA) - Fonte: [www.cdc.gov](http://www.cdc.gov)

## 1998

### Obesidade (IMC $\geq$ 30 kg/m<sup>2</sup>)

### Diabetes



Missing Data	<14.0%	Missing data	<4.5%
14.0 - 17.9%	18.0-21.9%	4.5 - 5.9%	6.0 - 7.4%
22.0 - 25.9%	≥26.0%	7.5 - 8.9%	≥9.0%





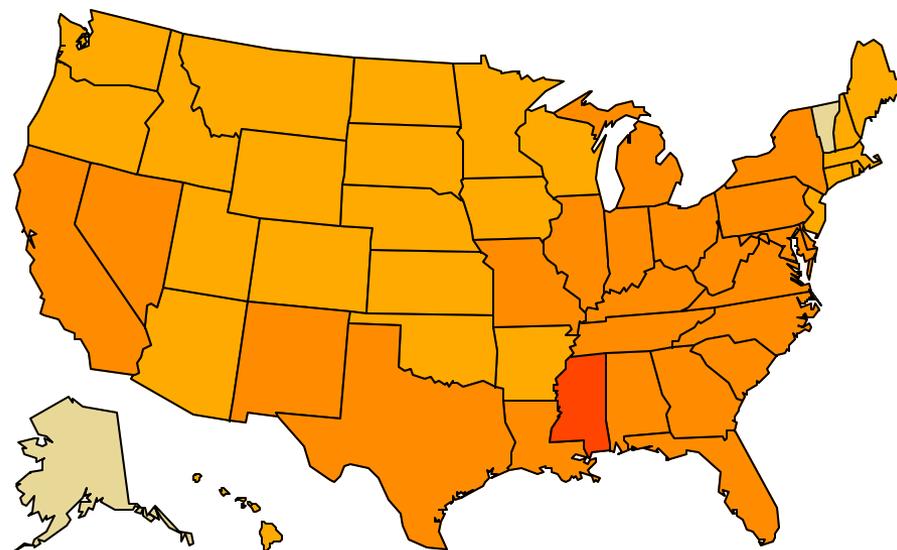
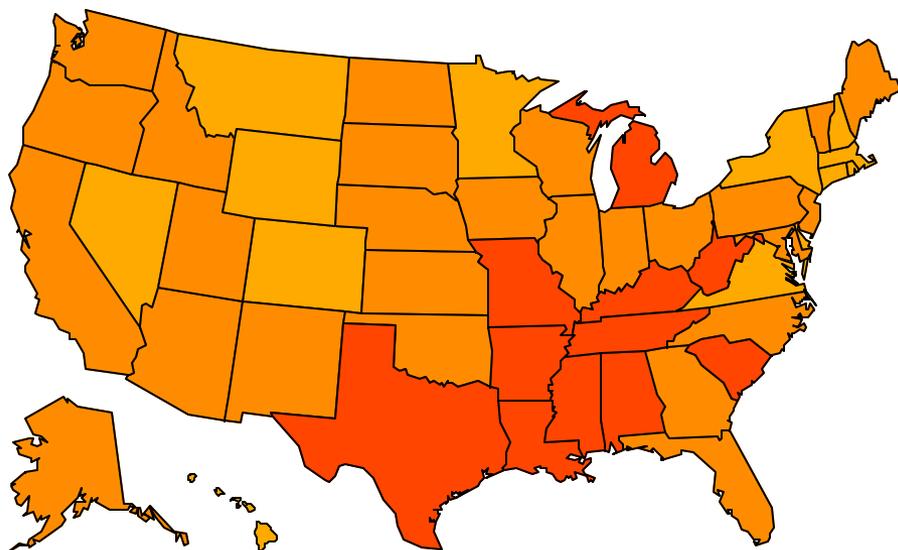


# Percentual de Adultos Obesos ou com Diabetes Diagnosticado (EUA) - Fonte: [www.cdc.gov](http://www.cdc.gov)

## 2000

Obesidade (IMC  $\geq$  30 kg/m<sup>2</sup>)

Diabetes



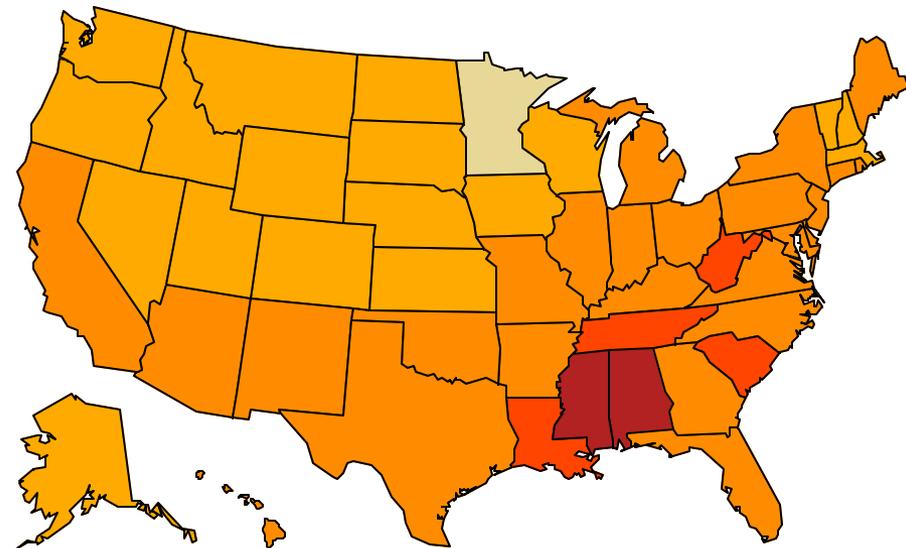
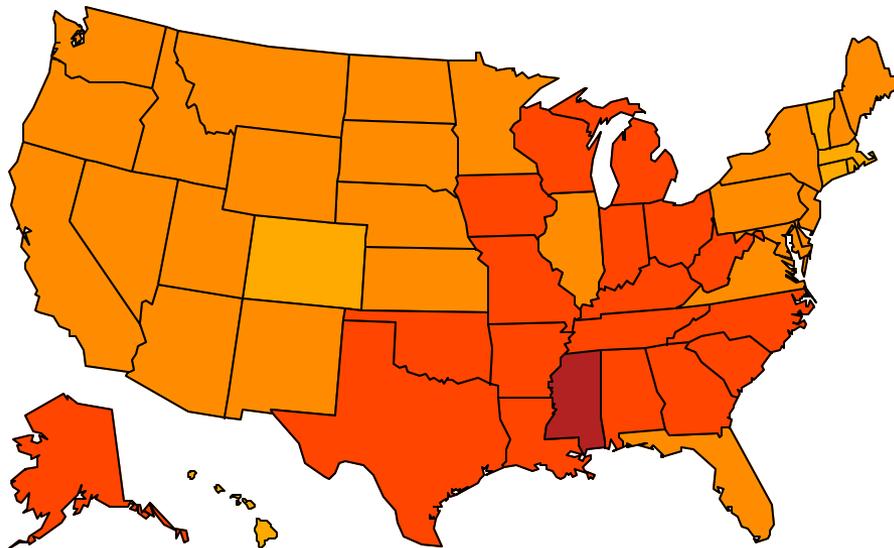


# Percentual de Adultos Obesos ou com Diabetes Diagnosticado (EUA) - Fonte: [www.cdc.gov](http://www.cdc.gov)

## 2001

Obesidade (IMC  $\geq$  30 kg/m<sup>2</sup>)

Diabetes



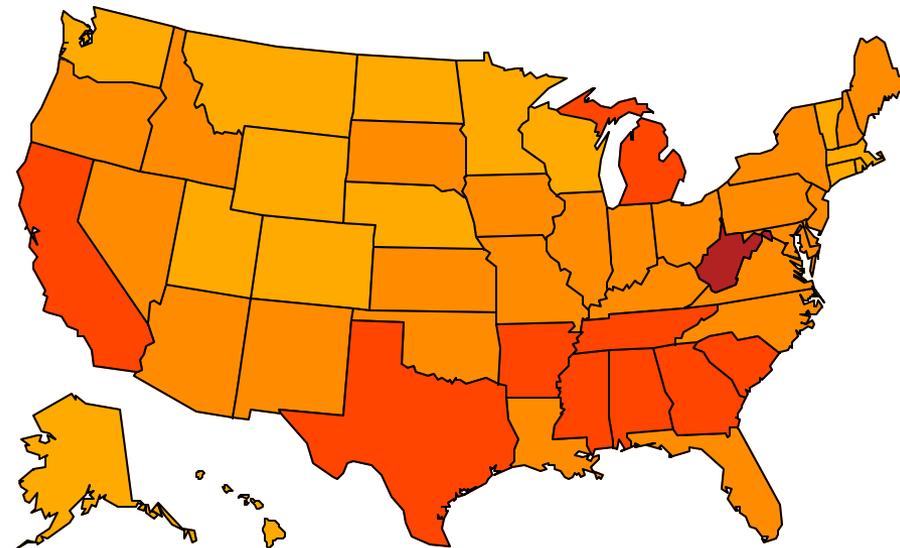
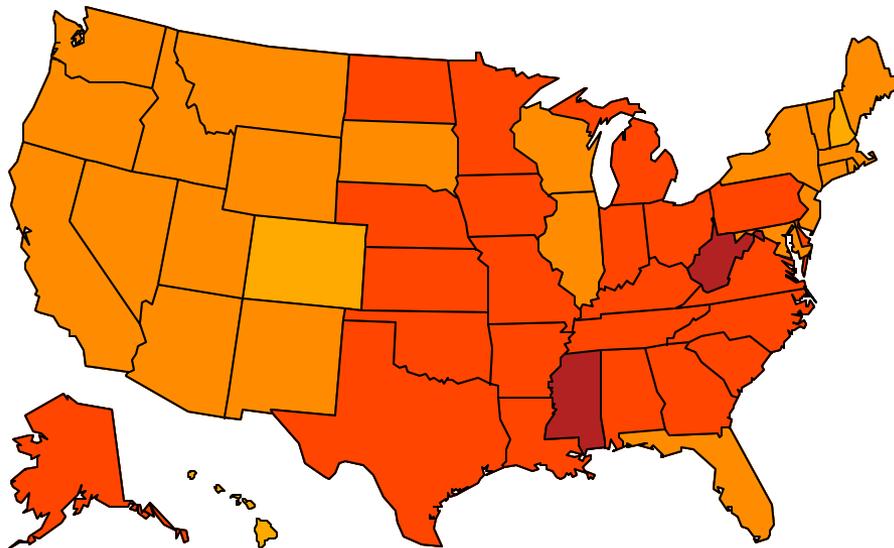


# Percentual de Adultos Obesos ou com Diabetes Diagnosticado (EUA) - Fonte: [www.cdc.gov](http://www.cdc.gov)

## 2002

### Obesidade (IMC $\geq$ 30 kg/m<sup>2</sup>)

### Diabetes



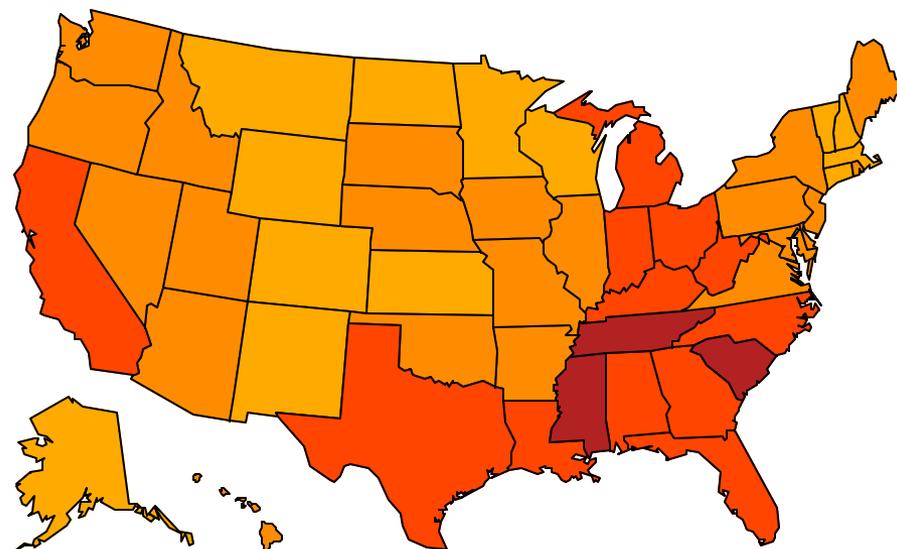
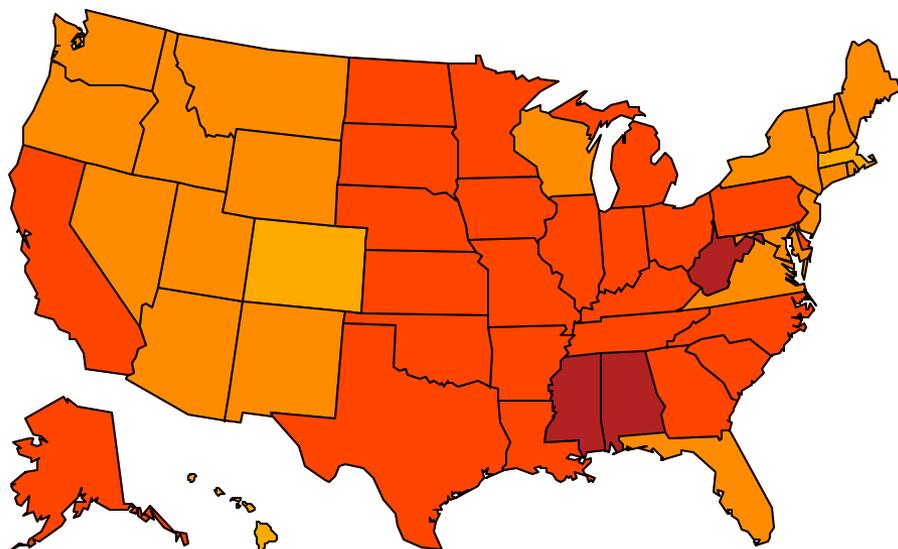


# Percentual de Adultos Obesos ou com Diabetes Diagnosticado (EUA) - Fonte: [www.cdc.gov](http://www.cdc.gov)

## 2003

### Obesidade (IMC $\geq$ 30 kg/m<sup>2</sup>)

### Diabetes



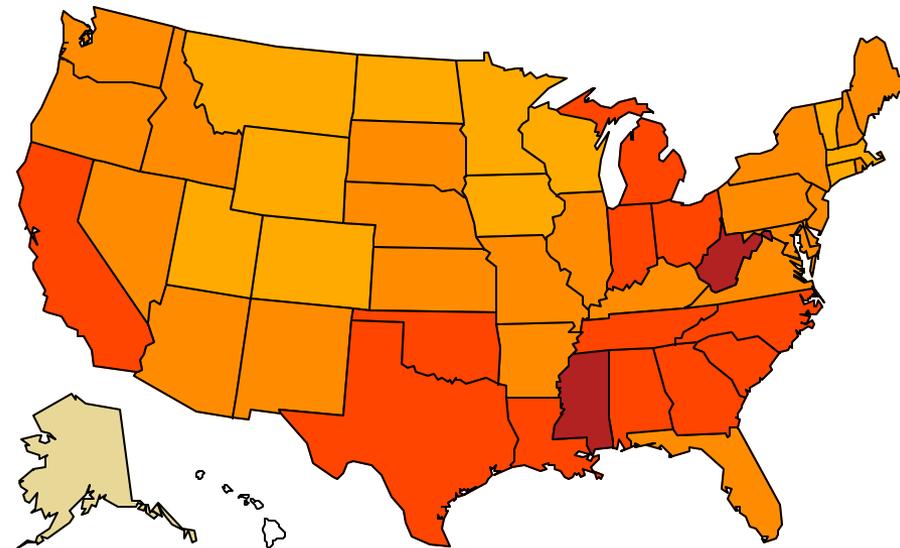
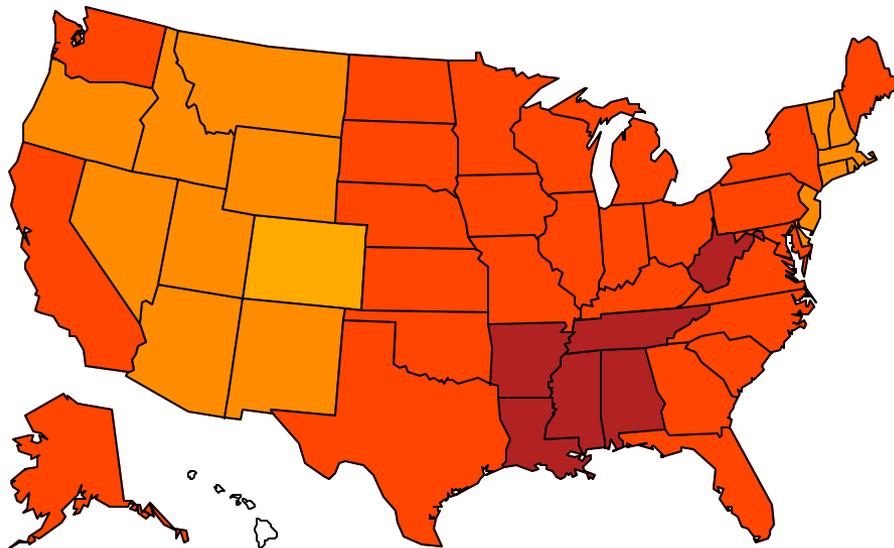


# Percentual de Adultos Obesos ou com Diabetes Diagnosticado (EUA) - Fonte: [www.cdc.gov](http://www.cdc.gov)

## 2004

### Obesidade (IMC $\geq$ 30 kg/m<sup>2</sup>)

### Diabetes



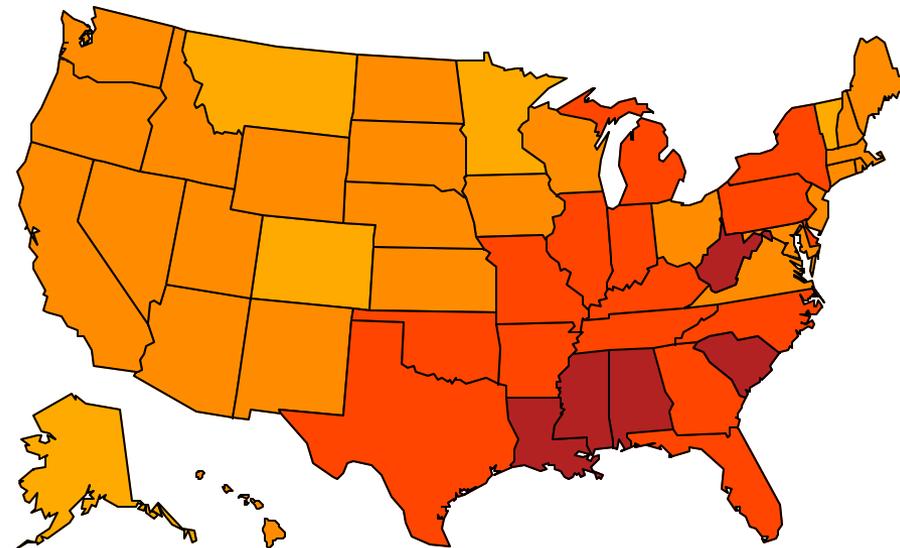
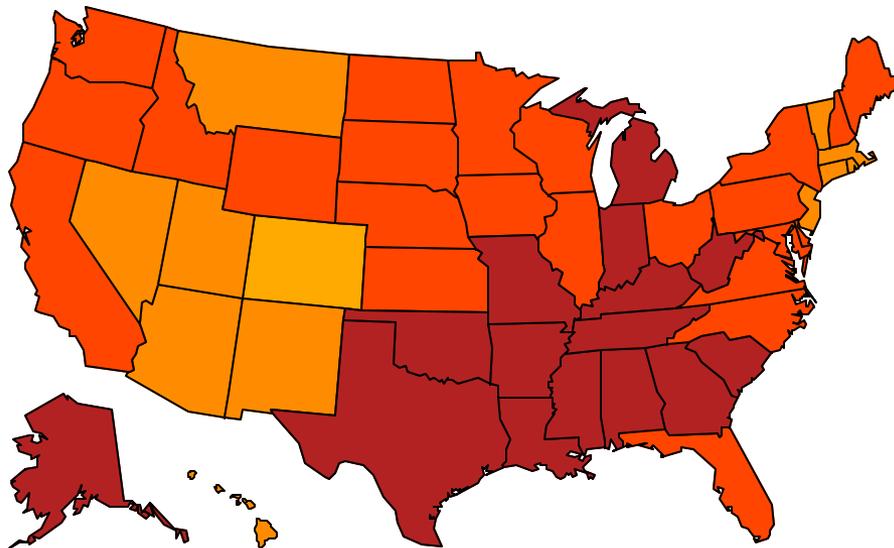


# Percentual de Adultos Obesos ou com Diabetes Diagnosticado (EUA) - Fonte: [www.cdc.gov](http://www.cdc.gov)

## 2005

Obesidade (IMC  $\geq$  30 kg/m<sup>2</sup>)

Diabetes



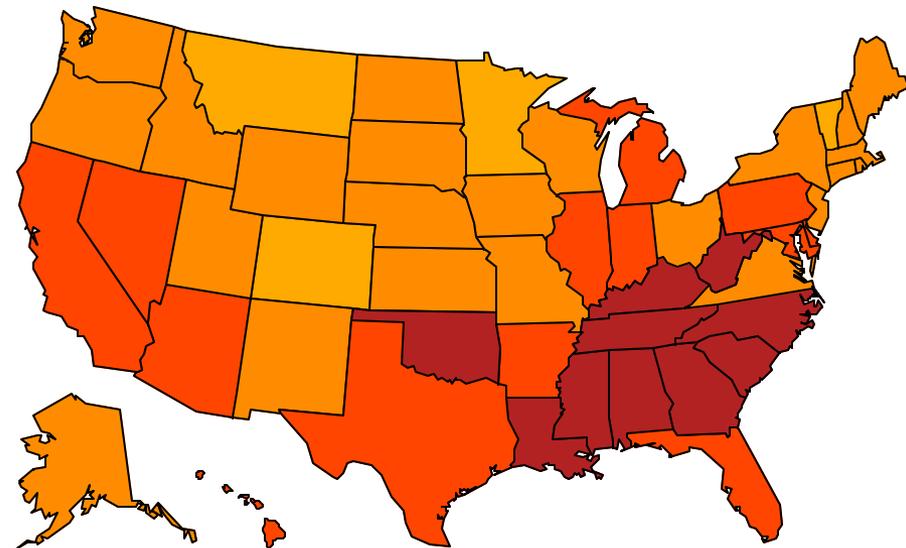
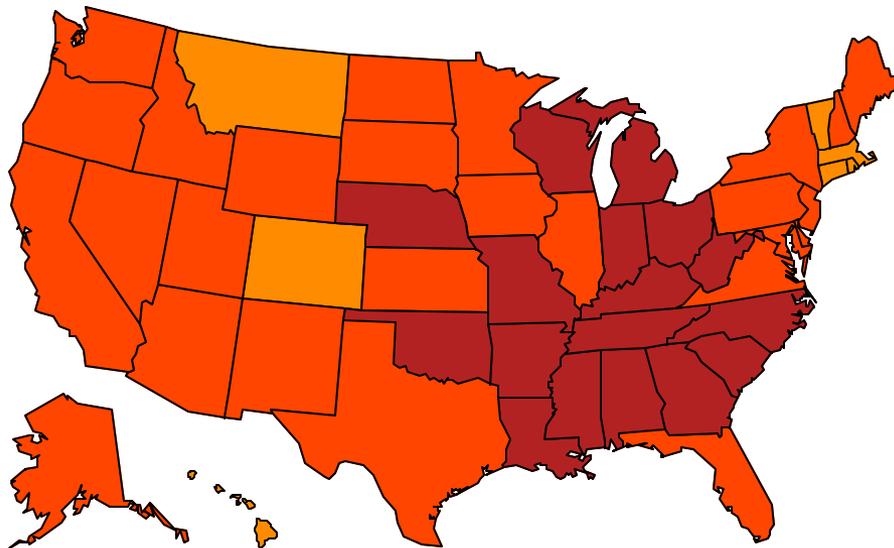


# Percentual de Adultos Obesos ou com Diabetes Diagnosticado (EUA) - Fonte: [www.cdc.gov](http://www.cdc.gov)

## 2006

### Obesidade (IMC $\geq$ 30 kg/m<sup>2</sup>)

### Diabetes



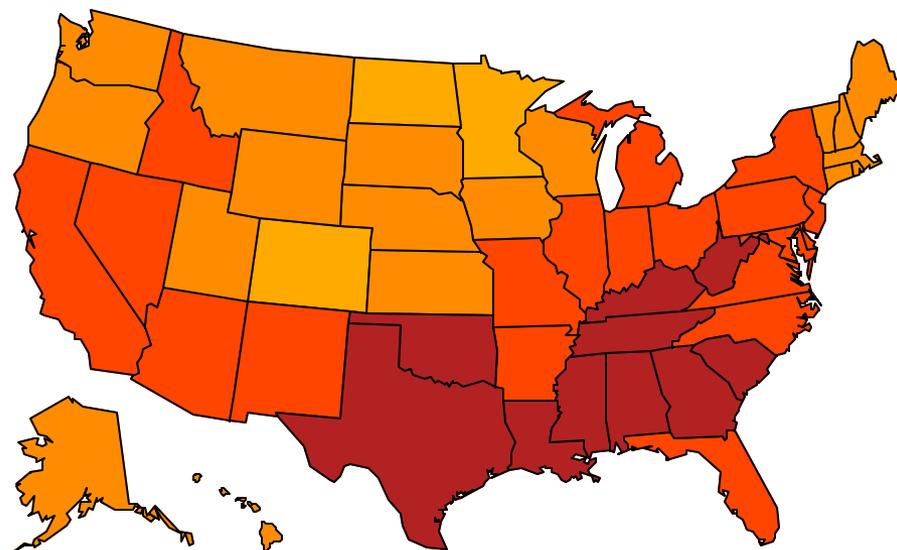
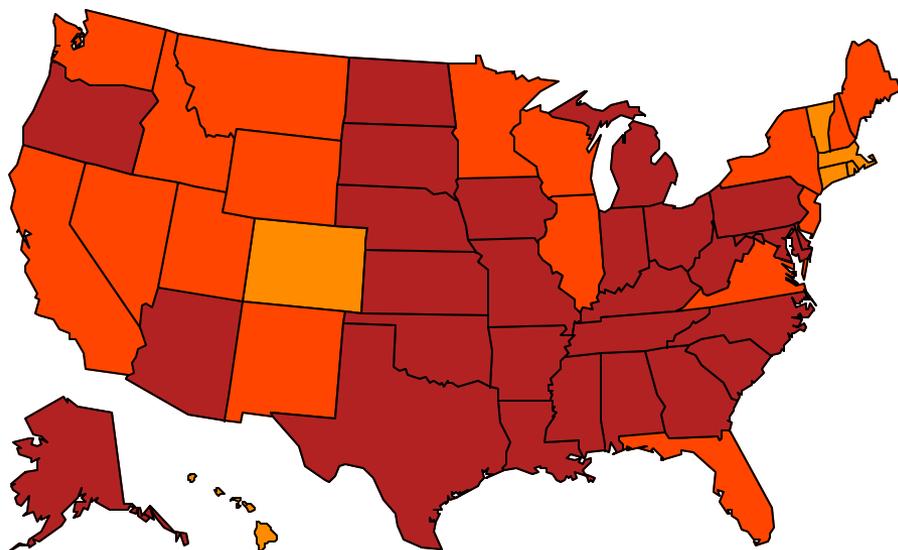


# Percentual de Adultos Obesos ou com Diabetes Diagnosticado (EUA) - Fonte: [www.cdc.gov](http://www.cdc.gov)

## 2007

Obesidade (IMC  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup>)

Diabetes



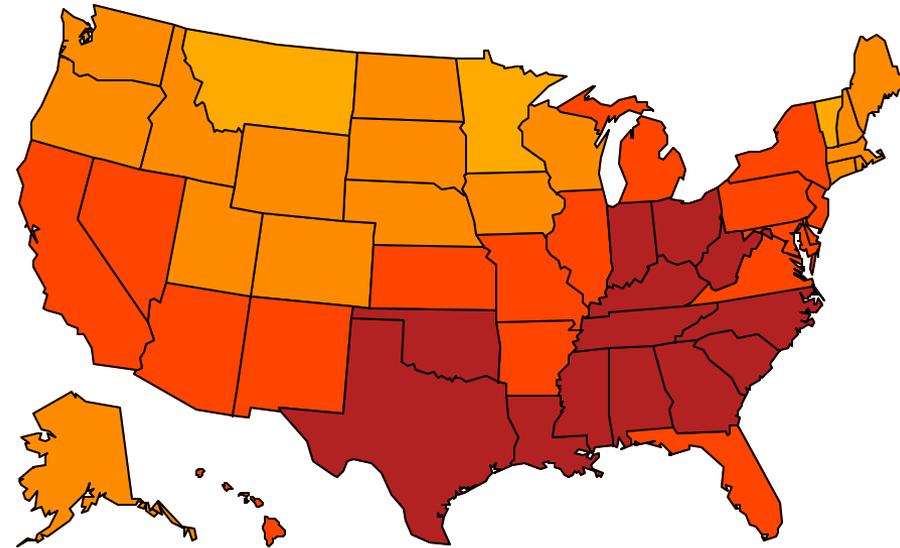
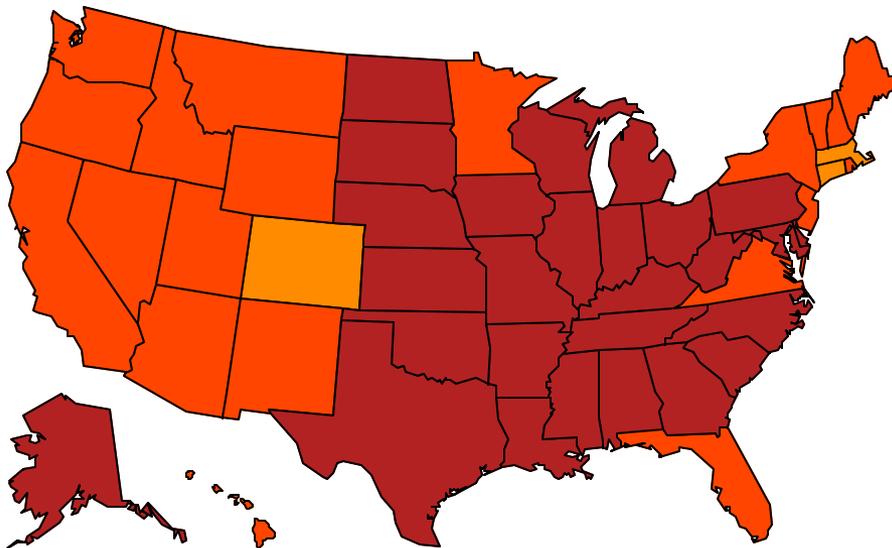


# Percentual de Adultos Obesos ou com Diabetes Diagnosticado (EUA) - Fonte: [www.cdc.gov](http://www.cdc.gov)

## 2008

Obesidade (IMC  $\geq$  30 kg/m<sup>2</sup>)

Diabetes





# Age-adjusted Percentage of U.S. Adults Who Were Obese or Who Had Diagnosed Diabetes

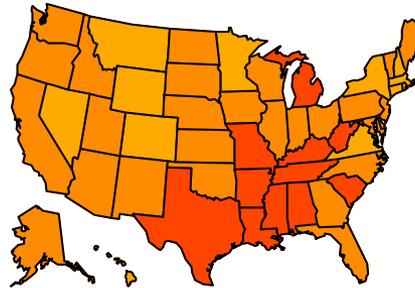
Universidade Federal do ABC

## Obesidade

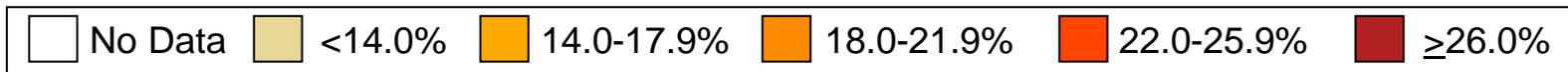
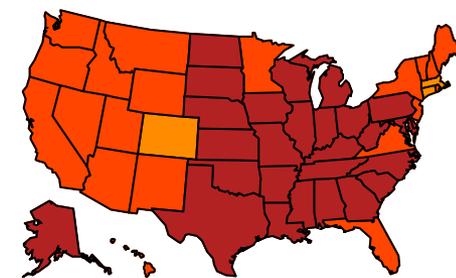
1994



2000

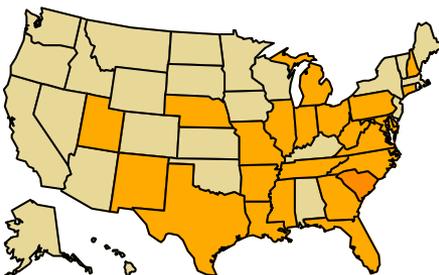


2008

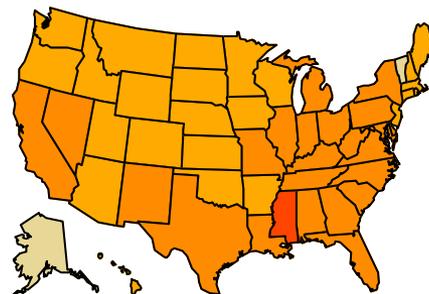


## Diabetes

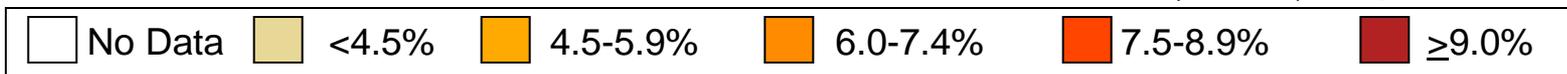
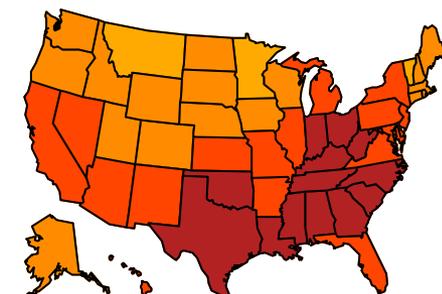
1994



2000



2008



CDC's Division of Diabetes Translation. National Diabetes Surveillance System available at <http://www.cdc.gov/diabetes/statistics>





# Diabetes Melito

- 5% das mortes no mundo (OMS);
- EUA:
  - 18% do total de mortes de pessoas > 25 anos;
  - Principal causa de doença renal terminal, novos casos de cegueira e amputações não-traumáticas<sup>1</sup>.
- 7 milhões de novos casos/ano;
- Aumento de 41% na incidência (EUA) entre 1997 e 2003<sup>2</sup>.
- Custo estimado do manejo direto e indireto do diabetes no planeta:
  - US\$ 286 bilhões<sup>3</sup>.

1. Andreoli, T.E. et al, Cecil essentials of medicine. 5th ed. W.B. Saunders. 2001.
2. Geiss et al (2006) *Am. J. Prev. Med.*, **30**:371-377.
3. Ottow, E., Weinmann, H. Nuclear receptors as drug targets. Wiley. 2008.



# Diabetes Melito no Brasil

- **Ano 2000:** 4.553.000 portadores;
- **2030:** 11.305.000 portadores (Estimativa da OMS);
- **Ribeirão Preto (2003)<sup>3</sup>:**
  - 1473 indivíduos não selecionados testados;
    - Prevalência: 12%;
    - “(...) *as modificações em fatores ambientais e no estilo de vida que vem acontecendo em cidades brasileiras, especialmente com relação ao estilo sedentário de vida e à obesidade devem acarretar em uma importante mudança no perfil da doença no país*”.



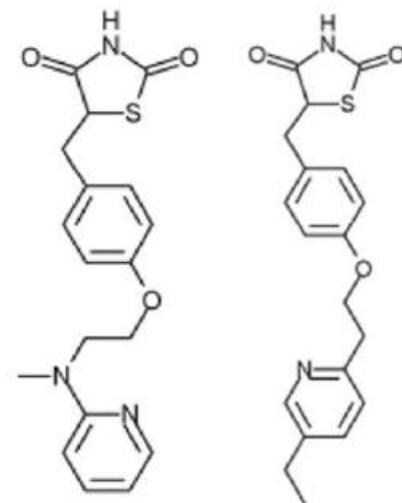
# DM – Estratégia Terapêutica

- Redução da glicemia pós-prandial → prevenção das complicações micro-vasculares em longo prazo.
  - Perda de peso, exercícios físicos, dieta restritiva, hipoglicemiantes e tiazolidinedionas (TZDs);
    - **Biguanidas:** inibição da gliconeogênese e aumento da glicólise nos tecidos.
    - **Acarbose:** redução da absorção intestinal.
    - **Sulfoniluréias:** estímulo à liberação de insulina nas células beta.



# Diabetes do tipo II

- Drogas em uso almejando o PPAR $\gamma$ :
  - Rosiglitazona (*Avandia*®) e Pioglitazona (*Actos*®)
- Tiazolidinedionas (TZDs);
- Aumento de peso, adipogênese, retenção de fluidos, aumento do volume circulante efetivo, aumento na incidência de efeitos cardiovasculares\*.
- Efeitos colaterais diferenciados;
- Mecanismos farmacodinâmicos diferenciados em função de uma interação ligeiramente diferente com o receptor PPAR $\gamma$ .



Rosiglitazona

Pioglitazona



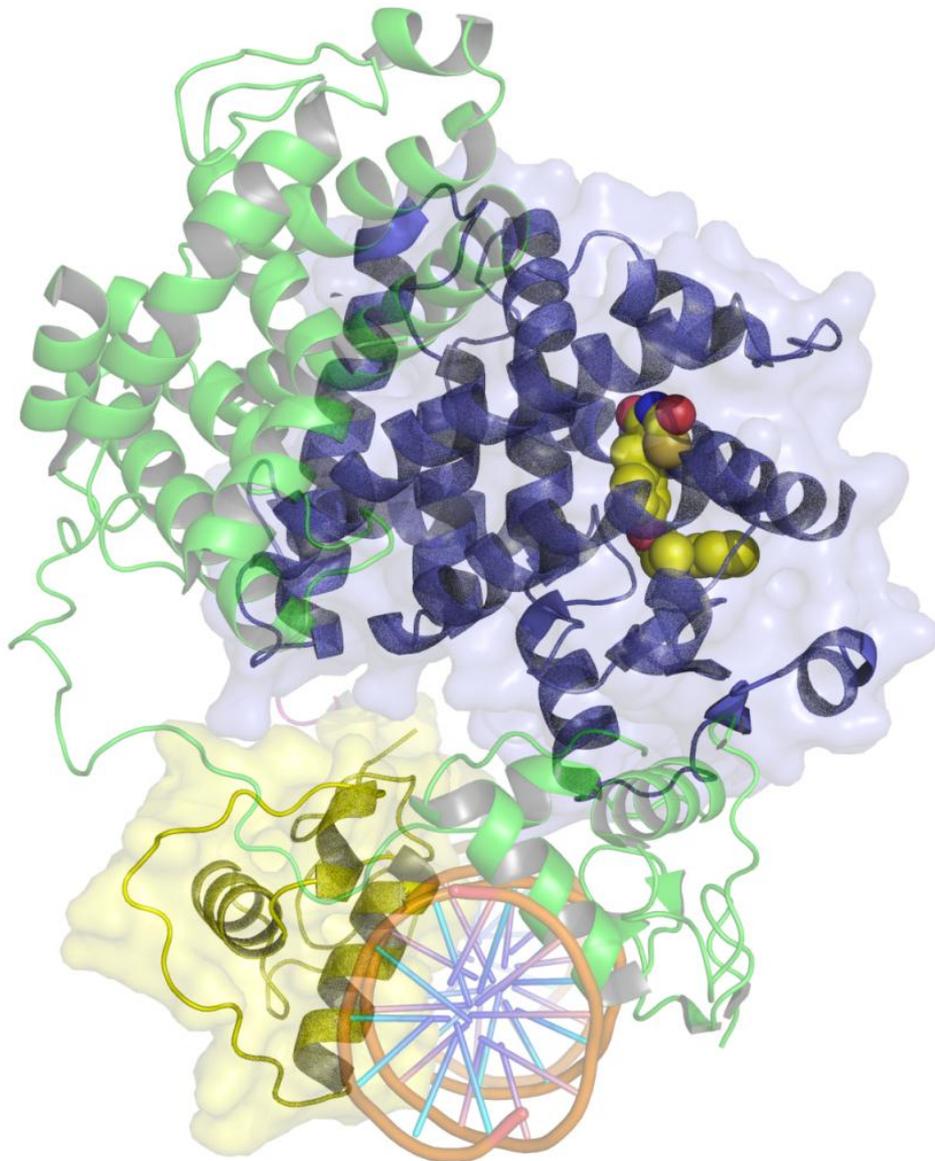
# Conclusão

- Novas ferramentas farmacológicas ainda são necessárias para o manejo correto do diabetes melito, especialmente do DM do tipo II.





# O receptor PPAR $\gamma$



steróide;

as, eicosanóides e

do metabolismo de  
regulação da

;

tamento do diabetes





# PPAR $\gamma$ em Ação!



HHMI



*Thanks, Ronald Evans, from Howard Hughes Medical Institute!*



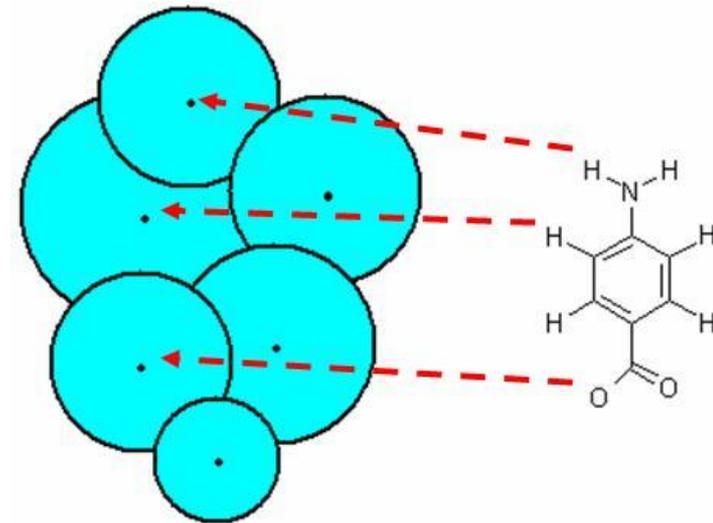
# Estrutura do receptor PPAR $\gamma$

- **PDB** (dezembro de 2008):
  - 54 estruturas resolvidas:
    - Fácil expressão, purificação e cristalização;
- Desenvolvimento de novos ligantes a partir da informação estrutural existente:
  - Novos arcabouços moleculares (*scaffolds*);



# Docking Molecular

- Computacionalmente:
  - Posicionar um ligante no sítio ativo de um receptor;
  - Avaliar a qualidade da ligação;
    - Função de pontuação (*scoring*);
      - Mecânica Molecular
    - Ranquear uma série de ligantes;
  - Seleção de moléculas viáveis para testes experimentais;



$$E_{DOCK} = \sum_{i=1}^{lig} \sum_{j=1}^{rec} \left[ \frac{A_{ij}}{r_{ij}^{12}} - \frac{B_{ij}}{r_{ij}^6} + \frac{332.0 q_i q_j}{D r_{ij}} \right]$$

# Docking Molecular

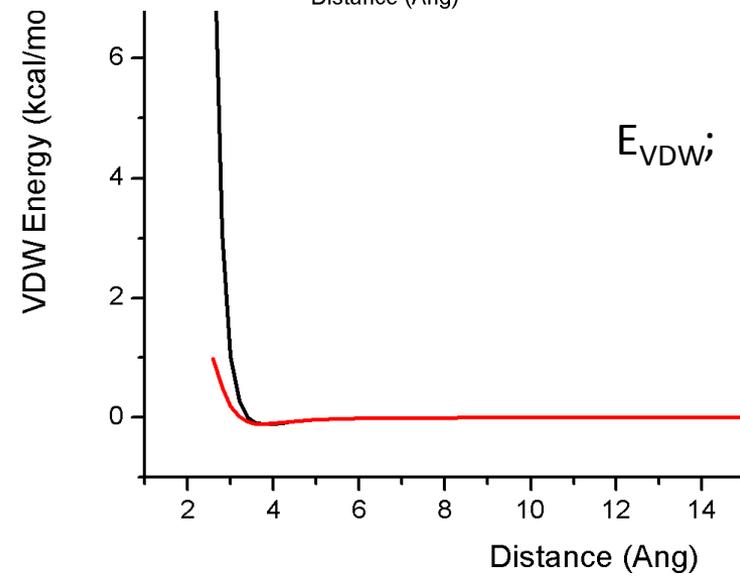
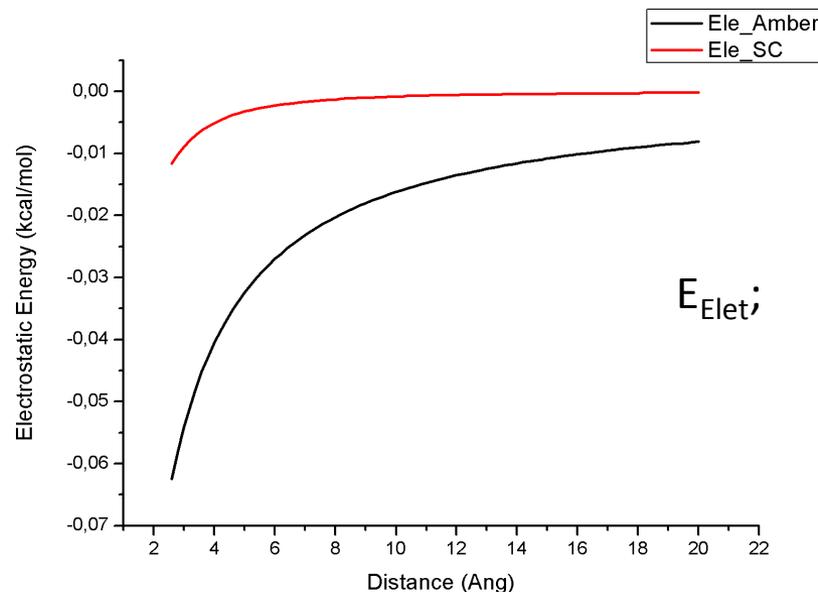
- Avaliação Energética:

$$- E_{\text{Total}} = E_{\text{VDW}} + E_{\text{elet}} + E_{\text{Solv}} (\neq \Delta G)$$

$$E_{\text{Elet}} = \sum_i^{\text{ligantereceptor}} \sum_j^{\text{ligantereceptor}} \frac{q_i q_j}{D r_{ij}}$$

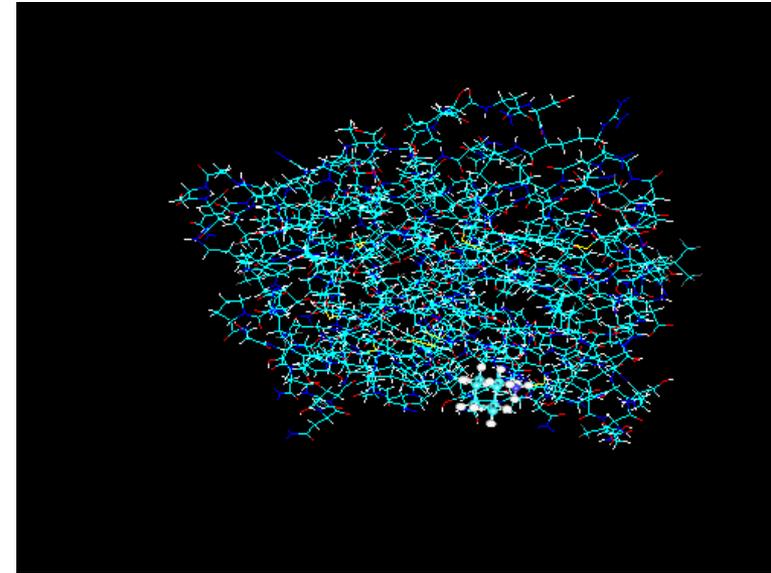
$$E_{\text{VDW}} = \sum_i^{\text{ligantereceptor}} \sum_j^{\text{ligantereceptor}} \frac{A_{ij}}{r_{ij}^{12}} - \frac{B_{ij}}{r_{ij}^6}$$

$$E_{\text{Solv}} = ???$$



# Docking Molecular

- Sistema de esferas rígidas;
  - Não superponíveis;
  - Dotadas de cargas atômicas;
    - Centradas no centro de massa;



# Métodos

- Estruturas do receptor:
  - 2F4B, 2P4Y, 1FM9.
- Ligantes:
  - *Lead-like* database;
  - ZINC (<http://zinc.docking.org/>)
- UCSF Cluster (700 processadores);
- **UCSF DOCK 3.5.67;**
- Inspeção visual dos resultados

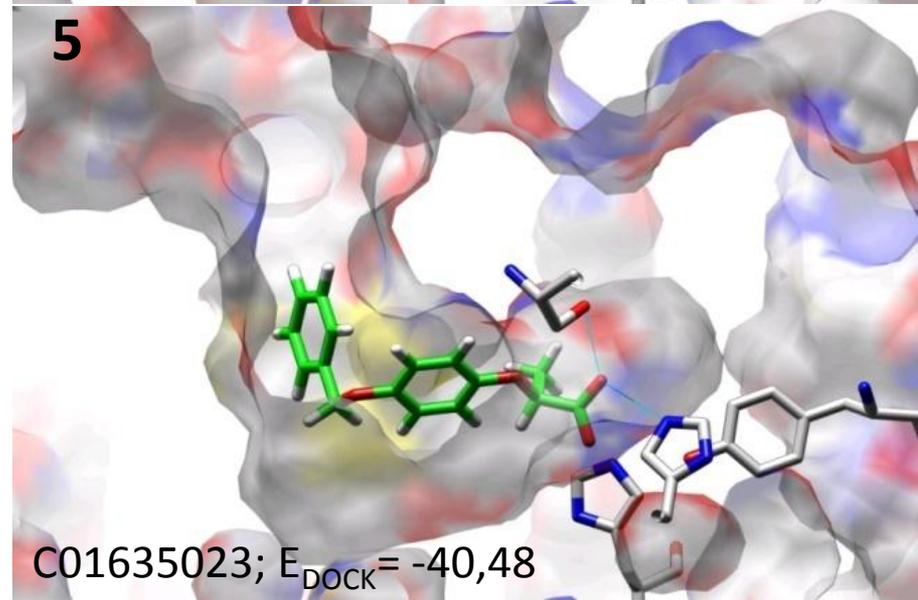
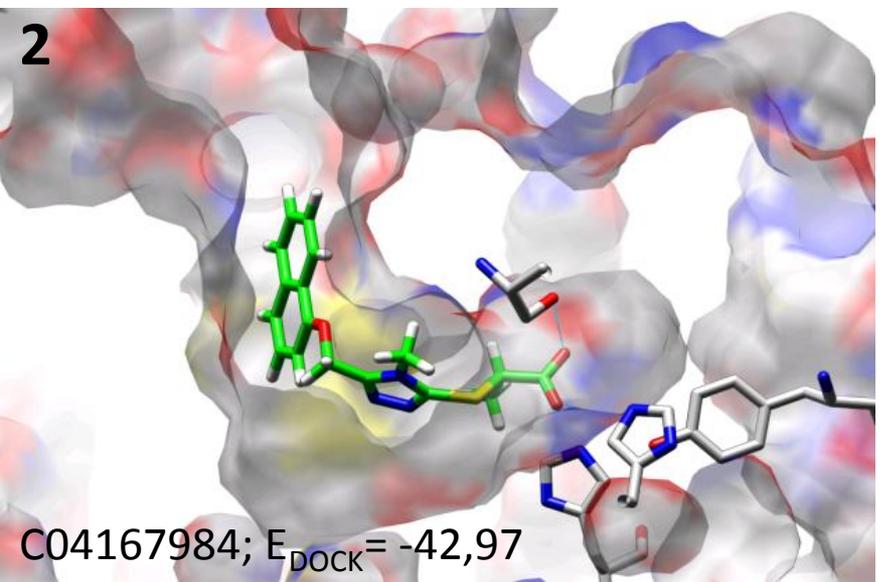
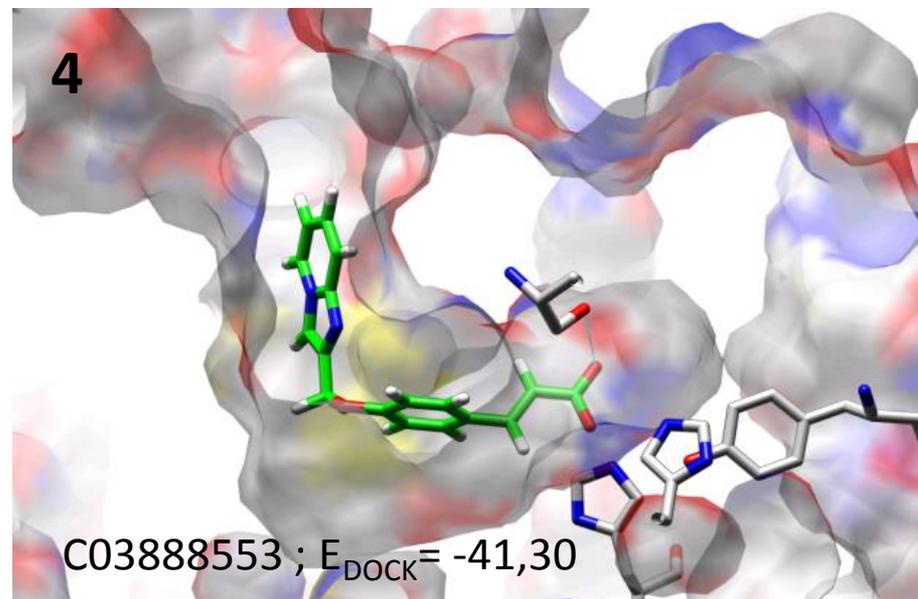
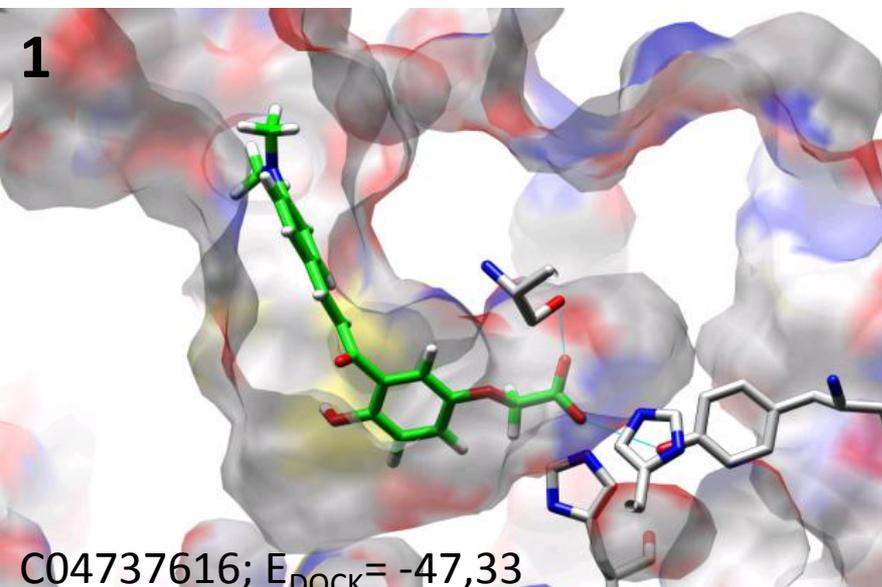


# Resultados

- ZINC Lead-like: 978.608 moléculas;
- Após o ranqueamento:
  - 200 moléculas inspeccionadas;
  - 15 moléculas pré-selecionadas;
    - Ligações de hidrogênio feitas;
    - Interações polares satisfeitas;
    - Preenchimento do bolso de ligação;
- 5 moléculas adquiridas via importação para testes experimentais;
  - Ensaio de transativação em células de mamíferos
    - U937
    - Luciferase como gene repórter



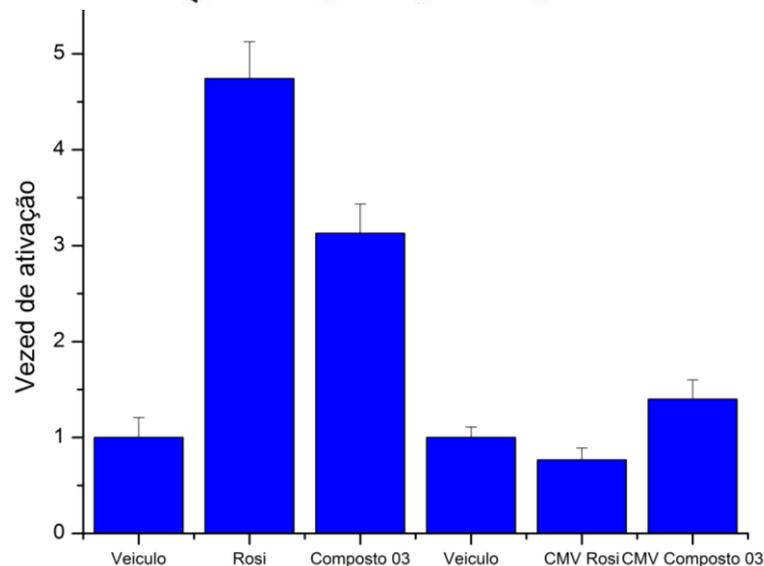
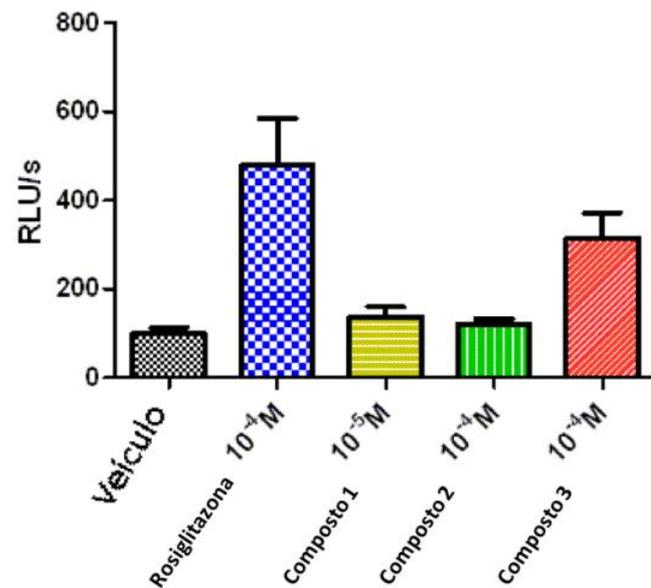
# Resultados





# Resultados – Atividade biológica

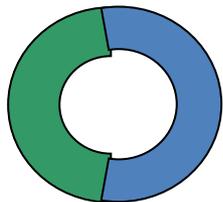
- Resultados preliminares:
  - 1 dos 4 compostos demonstrou atividade em concentrações comparáveis à rosiglitazona;
  - 60-65% da atividade da rosiglitazona;
  - Os testes com CMV vazio demonstram que a atividade é PPAR $\gamma$  específica.



# Ensaio com Gene Repórter

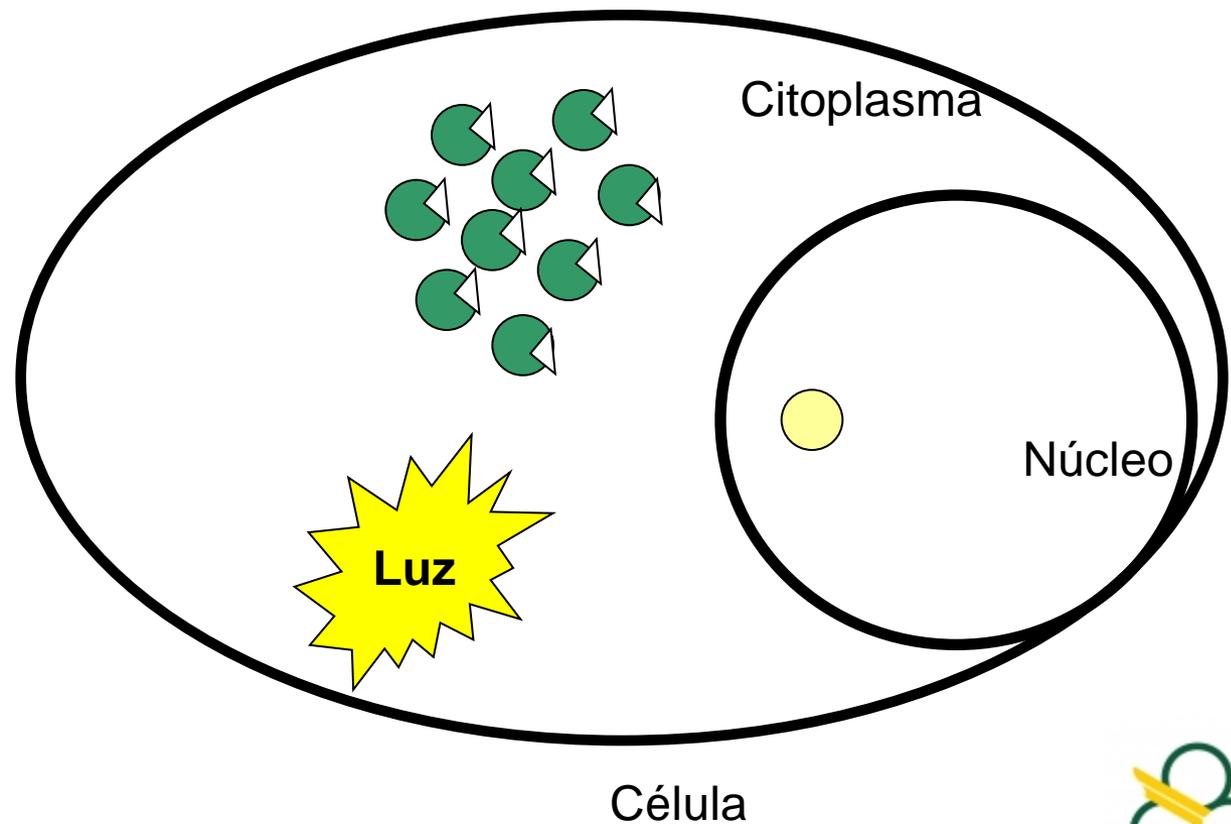
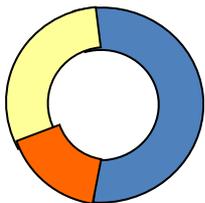
Plasmídeo 01:

Gene do receptor;



Plasmídeo 02:

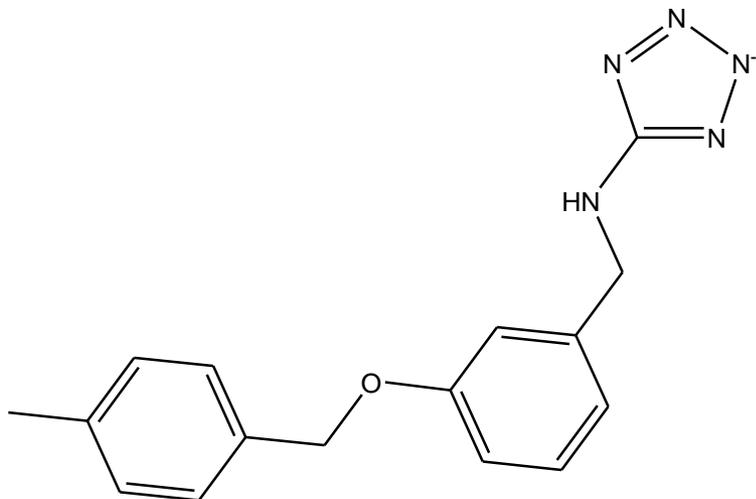
Elemento de resposta +  
gene da luciferase





# E o composto 03?

- Composto tetrazol, inédito para agonistas do PPAR $\gamma$ ;
- Hipoglicemiante conhecido, mas sem mecanismo descrito no entanto;



**Composto 03**

**United States Patent** [19]  
Kees

[11] Patent Number: 4,845,231  
[45] Date of Patent: Jul. 4, 1989

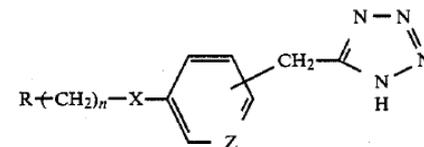
## TETRAZOLES AND THEIR USE AS HYPOGLYCEMIC AGENTS

Inventor: **Kenneth L. Kees**, West Chester, Pa.

Assignee: **American Home Products Corporation**, New York, N.Y.

### [57] ABSTRACT

Compounds of the formula:



in which

R is a substituted or unsubstituted monocyclic or bicyclic alkyl group containing from 3 to 8 ring carbon atoms, wherein any substituent is alkyl of 1 to 3 carbon atoms, oxo, hydroxy, carboxy or when the hydroxy and carboxy substituents taken together they form a 1,3-carboxylate lactone ring closed structure;

n is one of the integers 0, 1, 2 or 3;

X is —O—,



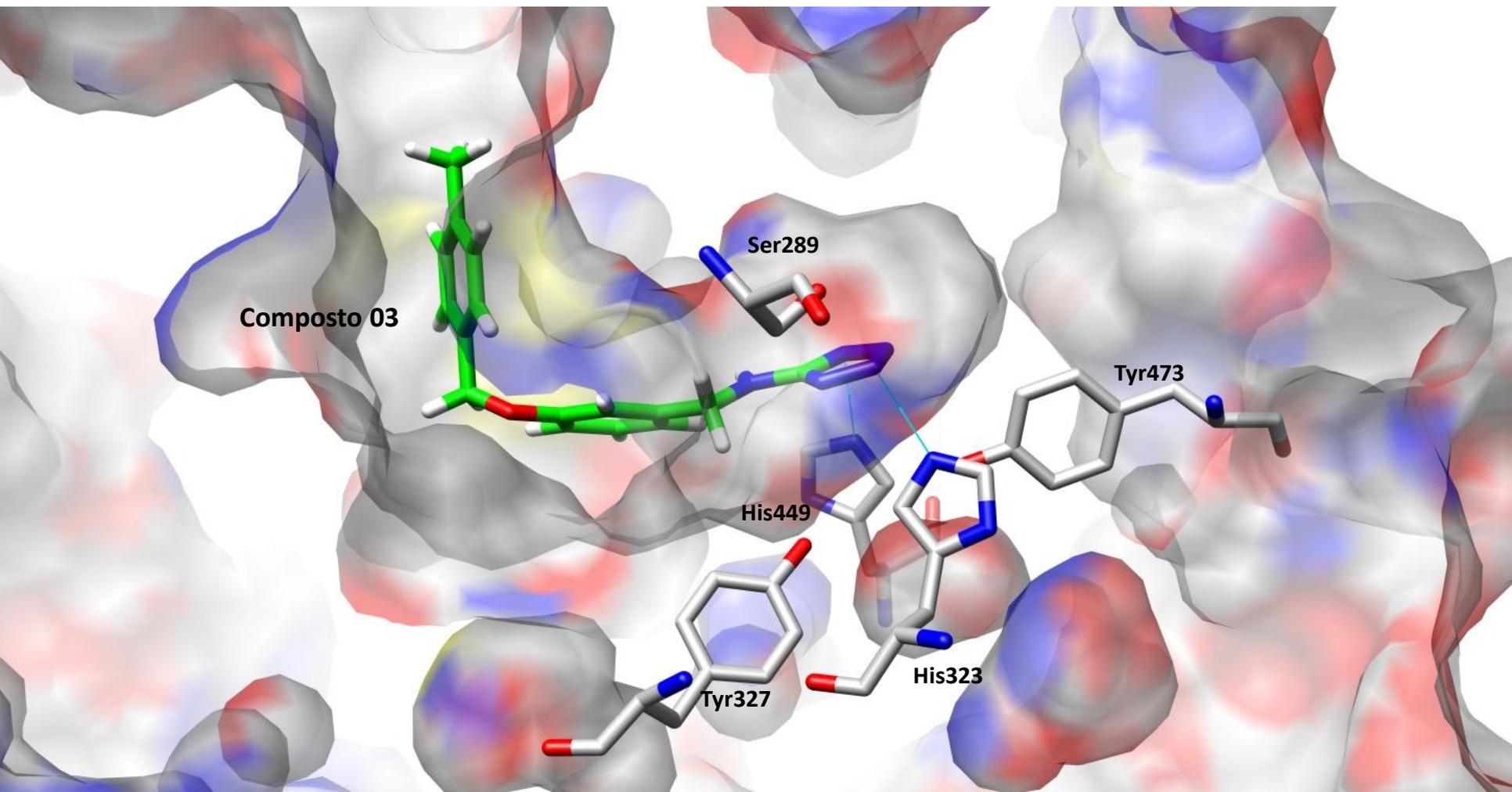
or —SO<sub>2</sub>NH—; and

Z is =CH— or —N=;

or a pharmaceutically acceptable salt thereof, are anti-hyperglycemic agents.



# Composto 03 – Interação com o PPAR $\gamma$



# Perspectivas para a UFABC

- Cálculos da Energia Livre de Ligação;
  - Processo de otimização virtual de fármacos.
    - Se dois estados, A e B, podem ser definidos em termos de seus Hamiltonianos  $H_A$  e  $H_B$ , a diferença de energia livre entre eles será:

$$G_B - G_A = \Delta G = -RT \ln \langle e^{\frac{-\Delta H}{RT}} \rangle_A$$

- Se definirmos um operador de mistura  $\lambda$  que varia lentamente de 0 a 1:

$$H(\lambda) = \lambda H_B + (1 - \lambda) H_A$$



# Perspectivas para a UFABC

- Cálculos da Energia Livre de Ligação;
  - Processo de otimização virtual de fármacos.
  - Teremos:

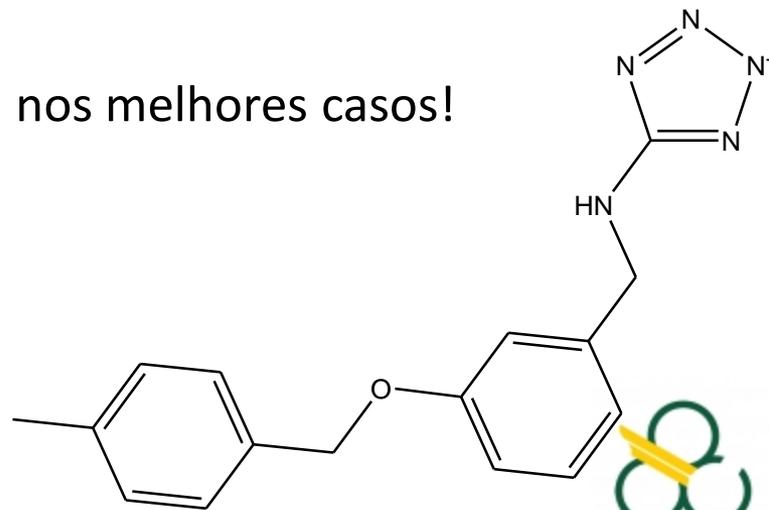
$$\Delta G = G_B - G_A = \sum_{\lambda=0}^1 -RT \ln \langle e^{\frac{-\Delta H'}{RT}} \rangle_{\lambda}$$

- Para  $\lambda$  infinitesimalmente pequenos:

$$\Delta G = \int_{\lambda=0}^{\lambda=1} \left\langle \frac{\partial H}{\partial \lambda} \right\rangle_{\lambda} d\lambda$$

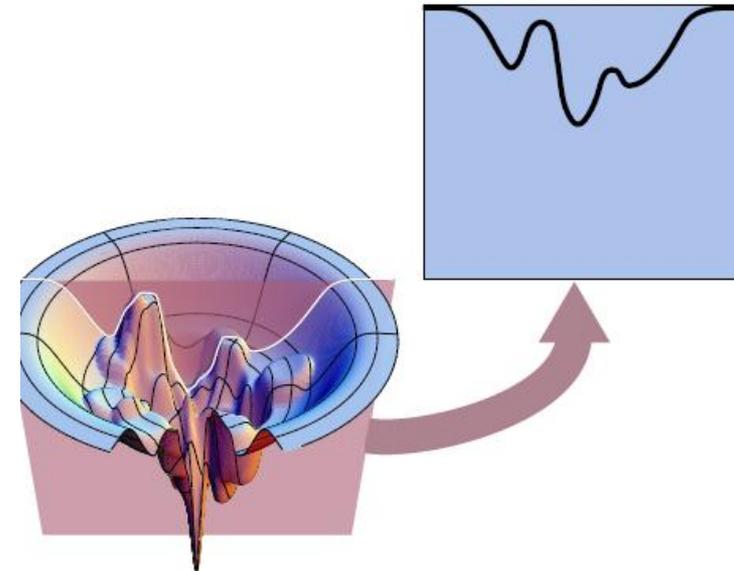
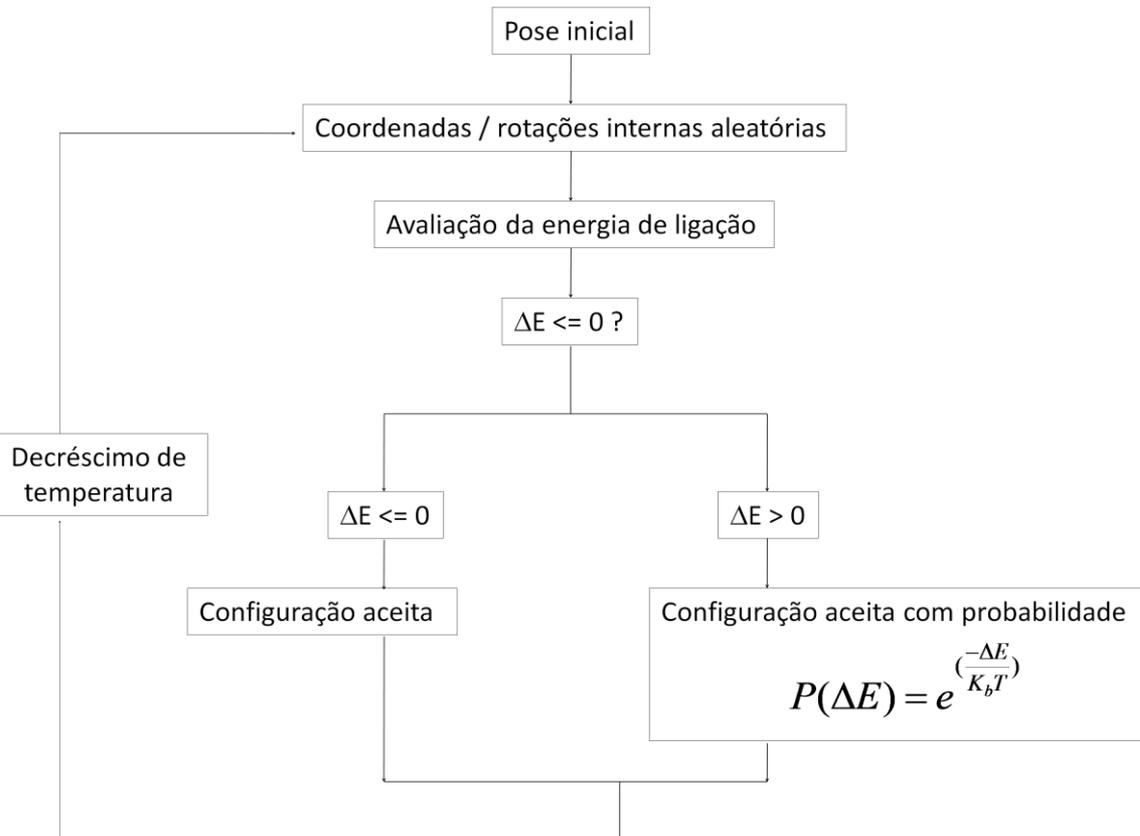
# Perspectivas para a UFABC

- Cálculos da Energia Livre de Ligação;
  - Processo de otimização virtual de fármacos.
    - Integração termodinâmica;
      - Triagem de modificações em ligantes:
        - » Inserção de halogênios;
        - » Hidroxilação
        - » Acetilação, etc....
      - Erros em  $\Delta G$  da ordem de 1 kcal/mol nos melhores casos!
    - Computacionalmente caro!



# Perspectivas para a UFABC

- Simulação da cinética de interação;
  - Funis de energia para o processo de ligação;





Universidade Federal do ABC

[alessandro.nascimento@ufabc.edu.br](mailto:alessandro.nascimento@ufabc.edu.br)

# THE END

## KEEP DOCKING...

Alessandro S. Nascimento



Bioengenharia - UFABC