

ESTUDOS *IN SILICO* DE PRÓ-FÁRMACOS DENDRIMÉRICOS CONTENDO ACICLOVIR EM PAMAM MODIFICADO

Lívia Maria Furukawa Bergamini

Colaboradores: Sophia Sueyoshi, Paula Passarin

Prof. Dra. Jeanine Giarolla Vargas

Faculdade de Ciências Farmacêuticas/Universidade de São Paulo

livia.bergamini@usp.br

Objetivos

O aciclovir é um fármaco clássico para o tratamento de doenças virais como *Herpes simplex*, e é classificado como fármaco de classe IV pelo Sistema de Classificação Biofarmacêutica, que torna seu tratamento oneroso e de baixa adesão.

Diante disso, este trabalho tem como objetivo a realização de um estudo *in silico* do pró-fármaco dendrímérico PAMAM ligado ao aciclovir. Paralelamente, pretende-se estudar estatisticamente quais parâmetros nas análises de *redocking* mais influenciam menores resultados de RMSD (*root mean square deviation*) para ligantes grandes e flexíveis, como a 2H7C, esterase que será utilizada no projeto.

Métodos e Procedimentos

O *redocking* foi realizado com a enzima esterase sanguínea inespecífica 2H7C (PDB ID: 2H7C), testando 16 combinações de parametrização, denominados “métodos” (Tabela 1) que variaram eficiência do algoritmo, tamanho da caixa e flexibilidade do ligante.

Cada configuração foi executada em triplicata, resultando em 1920 confôrmeros, e avaliou-se também o desempenho das quatro funções de score do programa GOLD (ASP, CHEMPLP, GOLDScore e CHEMScore).

Para o preparo, visualização e tratamento das moléculas foram usados os programas Discovery Studio, Marvin Sketch, Gaussian 16, Crest e ACPYPE, enquanto as simulações de *redocking* foram realizadas no GOLD 4.1.2 e as análises estatísticas no software Minitab. Os valores de RMSD foram examinados por meio dos testes ANOVA, Tukey, Levene e Games-Howell, permitindo verificar diferenças significativas entre os métodos e identificar os parâmetros de maior impacto nos resultados.

Método	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Eficiência do algoritmo	Padrão	Padrão	Padrão	Padrão	Padrão	Padrão	Padrão	Padrão	Muito Rápido	Muito Rápido	Muito Rápido	Muito Rápido	Muito Rápido	Muito Rápido	Muito Rápido	Muito Rápido
Tamanho da caixa (Å)	10	10	8	8	6	6	4	4	10	10	8	8	6	6	4	4
Flexibilidade do ligante durante a simulação	Flexível	Rígido	Flexível	Rígido	Flexível	Rígido	Flexível	Rígido	Flexível	Rígido	Flexível	Rígido	Flexível	Rígido	Flexível	Rígido

Tabela 1. Métodos aplicados para a validação do *redocking*.

Resultados

O *redocking* gerou diferentes resultados de RMSD obtidos em 16 métodos com diferentes parametrizações, obtendo os seguintes resultados:

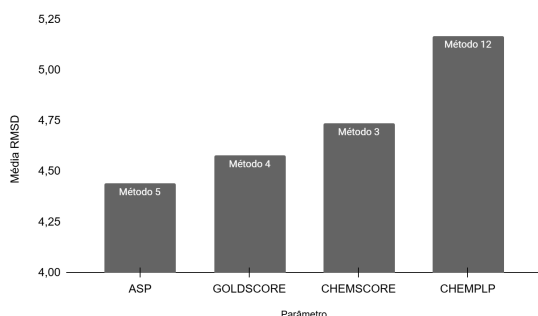


Figura 1. Menores valores de RMSD médio que cada método gerou em diferentes parâmetros.

Os resultados de *redocking* mostraram que nenhum método alcançou $\text{RMSD} \leq 2\text{\AA}$, sendo o menor valor obtido com a função de score ASP e caixa de 6\AA (método 5, $\text{RMSD} = 4,44\text{\AA}$).

A ANOVA indicou diferenças significativas entre as parametrizações ($p < 0,05$), e o teste de Tukey evidenciou que caixas de 6\AA e 8\AA resultaram nos menores valores de RMSD, distinguindo-se estatisticamente das caixas de 4\AA e 10\AA . Levene reforçou que apenas 6\AA e 8\AA apresentaram variâncias semelhantes, enquanto o Games-Howell confirmou que esse par não difere significativamente entre si, mas difere dos demais tamanhos. Importante notar que essas diferenças não puderam ser atribuídas a outros parâmetros (função de score, flexibilidade do ligante ou algoritmo), confirmando que o espaço da caixa foi um fator crítico para os resultados obtidos.

Conclusões

Os estudos realizados, a partir da avaliação estatística e uso de *softwares* especializados, mostram que o tamanho da caixa é o

parâmetro mais determinante nos resultados de ligantes grandes e flexíveis. Caixas amplas (10\AA) geram maior RMSD pelo excesso de conformações possíveis, enquanto caixas reduzidas (4\AA) limitam o ajuste do ligante. Nas dimensões intermediárias (6\AA e 8\AA), as diferenças de RMSD, ainda que sutis, confirmam a influência direta desse parâmetro. A otimização do *redocking* exige um equilíbrio entre restrição espacial e liberdade conformacional. Esses achados fornecem novos insights sobre ligantes extensos e flexíveis e ressaltam a relevância de abordagens estatísticas em um campo ainda pouco explorado. As perspectivas para os próximos meses serão aplicar esses conhecimentos obtidos para realizar o docking na molécula de aciclovir acoplada ao PAMAM.

Referências

- ARNAL, J. et al. Biowaiver monographs for immediate release solid oral dosage forms: Aciclovir. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 97, n. 12, p. 5061–5073, 2008.
- FICKER, M.; PAOLUCCI, V.; CHRISTENSEN, J. B. Improved large-scale synthesis and characterization of small and medium generation PAMAM dendrimers. **Canadian journal of chemistry**, v. 95, n. 9, p. 954–964, 2017.
- KUTNER, M. H. et al. Applied linear statistical models. **5. ed. Maidenhead, England: McGraw Hill Higher Education**, 2005.
- MORRIS, G. M. et al. Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function. **Journal of Computational Chemistry**, v. 19, n. 14, p. 1639-1662, 1998.