

IV SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXII Semana de Iniciação Científica

21 a 25 de outubro de 2019

Tema: "Desmonte da Pesquisa, Ciência e Tecnologia: repercussões e impactos tecnológicos, sociais e culturais"



DOCAGEM MOLECULAR EM MÚLTIPLAS CONFORMAÇÕES DO RECEPTOR μ -OPIÓIDE

Guilherme Mota dos Santos¹, Rubem Francisco Silva Bezerra², Diniz Maciel de Sena Junior³

Resumo: O receptor μ -opióide pertence à classe A dos receptores acoplados à proteína G (GPCRs), atuando na percepção e regulação normal da dor, sendo o principal alvo da morfina e de fármacos derivados do ópio. Esse receptor está relacionado a ativação de duas vias de sinalização, sendo uma associada a analgesia, e a outra a efeitos indesejáveis (depressão respiratória, dependência, sedação, etc.). Este trabalho tem o intuito de analisar as energias de ligação e as interações existentes entre diferentes ligantes e conformações do receptor μ -opióide. Os ligantes considerados foram morfina, buprenorfina, cebranopadol e a oliceridina. Todos eles apresentaram interação com o resíduo D147, como esperado, e energias de ligação menores quando ligados à forma inativa do receptor.

Palavras-chave: GPCRs. Morfina. Energia de ligação.

1. Introdução

Os receptores acoplados à proteína G (GPCRs) constituem o maior grupo de proteínas receptoras presentes na membrana celular da maioria dos mamíferos. (SCHONEBERG et al., 2004) Estes apresentam uma estrutura em comum de sete hélices transmembranares, onde sua cavidade funciona como um domínio de ligação. Os GPCRs ligam-se a neurotransmissores, pequenas moléculas, hormônios e outras diversas substâncias, a fim de intermediar respostas entre uma variedade de sinais externos. (LEFKOWITZ, 2004) Devido a isso, cerca de 40% dos fármacos têm como alvo os GPCRs. (SIUDA et al., 2017; WU et al., 2017)

Um dos representantes do grupo dos GPCRs é o receptor μ -opióide (MOR) que está relacionado à regulação de processos fisiológicos como a analgesia. Tanto opióides (ligantes que tem como alvo um receptor opióide) endógenos, como a encefalina, quanto exógenos, como a morfina), atuam sobre esses receptores, desencadeando de maneira eficiente efeitos antinociceptivos. Porém, os mesmos são responsáveis por desencadear diversos efeitos indesejáveis como dependência, constipação e problemas respiratórios (MEIRELES et al., 2012; MADARIAGA-MAZON et al., 2017; WU et al., 2017; PIEKIELNA-CIESIELSKA et al., 2018).

¹ Universidade Regional do Cariri, email: guilherme.mota@urca.br

² Universidade Regional do Cariri, email: rubemfrancisco@protonmail.com

³ Universidade Regional do Cariri, email: dnz@urca.br

IV SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXII Semana de Iniciação Científica

21 a 25 de outubro de 2019

Tema: "Desmonte da Pesquisa, Ciência e Tecnologia: repercussões e impactos tecnológicos, sociais e culturais"



Um dos métodos da química computacional que é frequentemente utilizado para o estudo das interações no complexo ligante-receptor é a docagem molecular. Esse método é vastamente utilizado no design de drogas assistido por computador, podendo ser aplicado em diversas etapas desse processo que vai desde a antecipação do modo de ligação entre o ligante e o receptor, passando pela identificação de potenciais ligantes, até o cálculo da afinidade de ligação. (FERREIRA et al., 2015)

O processo de docagem molecular envolve a previsão da interação entre o ligante e o sítio ativo da macromolécula em diferentes conformações estruturais, seguido da classificação dessas conformações utilizando funções de pontuação que calculam a afinidade de ligação no complexo. Essas simulações podem ser executadas considerando o receptor rígido ou flexível. Na abordagem rígida a estrutura macromolecular permanece estática enquanto os ligantes são flexíveis e buscam se adequar da melhor forma ao sítio de ligação. Já na abordagem flexível, os ligantes e as estruturas pertencentes ao sítio ativo do receptor, como suas cadeias ramificadas e os aminoácidos que participam do processo de ligação, são consideradas dinâmicas, sendo livres para se ajustarem um ao outro. (MUCHTARIDI et al., 2017; GODÓI et al., 2017).

Portanto o estudo das estruturas e possíveis conformações dos GPCRs, durante o seu processo de ativação, podem contribuir para a compreensão do funcionamento dessa família de receptores. Tal fato colabora de forma preliminar para o desenvolvimento de novos fármacos mais eficientes e com menor ocorrência de efeitos adversos.

2. Objetivo

Este projeto tem como objetivo geral estudar as nuances estruturais que levam à ativação de um GPCR, procurando relacioná-las com a via de ativação associada ao respectivo ligante que o provocou.

Especificamente estamos interessados em:

- Avaliar o sítio ativo do receptor μ -opioide em diferentes conformações através da docagem molecular;
- Estabelecer critérios de classificação de conformações do MOR em uma escala de atividade, baseados na afinidade dos ligantes com os mesmos, observadas por docagem molecular;
- Comparar os dados obtidos com o MOR com aqueles disponíveis para outros GPCRs (uma vez que existem vários resíduos conservados de uma classe de GPCR para outra);

IV SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXII Semana de Iniciação Científica

21 a 25 de outubro de 2019

Tema: "Desmonte da Pesquisa, Ciência e Tecnologia: repercussões e impactos tecnológicos, sociais e culturais"



3. Metodologia

Os alvos selecionados foram as estruturas cristalinas do MOR, tanto na forma ativa (PDB: 5C1M) quanto inativa (PDB: 4DKL). As estruturas cristalizadas foram obtidas a partir do repositório Protein Data Bank (www.rcsb.org).

Dentre os ligantes selecionados para a realização do processo de docagem molecular estão quatro agonistas do receptor μ -opioide sendo estes a morfina, buprenorfina, cebranopadol e a oliceridina.

Os ligantes selecionados para o estudo passaram por um processo de otimização de suas geometrias, utilizando o programa *G.A.M.E.S.S. (General Atomic and Molecular Structure System)*.

Os arquivos foram processados pelo programa *AutoDockTools 4.2* no qual as estruturas dos receptores e ligantes foram convertidas em um formato que seja compatível com o software *AutoDock 4*. Apenas nos ligantes foram adicionadas cargas parciais de Gasteiger e selecionadas suas ligações rotacionáveis. As estruturas do receptor apresentaram resíduos considerados flexíveis, conforme o tipo de ligante selecionado. Uma caixa de simulação com dimensões suficientes para acomodar o sítio de ligação e os ligantes, e que permita sua rotação dentro desse sítio, foi definida. Utilizando o Algoritmo Genético Lamarckiano o processo de docagem molecular será realizado.

Os parâmetros que foram avaliados na análise de dados são a energia de ligação e os resíduos próximos. Os dados das interações dos resíduos próximos foram expressos em um diagrama e avaliados visualmente, levando em consideração a formação de ligações de hidrogênio.

4. Resultados

Foram analisados os parâmetros de energia de ligação e resíduos do receptor ativo e inativo na sua forma flexível em interação com os ligantes buprenorfina, cebranopadol, oliceridina e morfina. A Tabela 1 apresenta os respectivos valores.

Tabela 1: Dados da energia e resíduos das ligações do receptor ativo e inativo na forma flexível.

Ligantes	Receptor ativo	Receptor inativo
	Energia de ligação (kcal)	Energia de ligação (kcal)
Buprenorfina	-30,27	-27,47
Cebranopadol	-27,32	-24,41
Morfina	-27,35	-25,82
Oliceridina	-27,83	-25,66

IV SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXII Semana de Iniciação Científica

21 a 25 de outubro de 2019

Tema: "Desmonte da Pesquisa, Ciência e Tecnologia: repercussões e impactos tecnológicos, sociais e culturais"



Em relação à energia de ligação entre os ligantes e o receptor, notou-se que dentre os quatro ligantes, a buprenorfina, nos receptores inativo e ativo apresentou a menor energia (-30,27 kcal e -27,47 kcal) respectivamente, sendo assim, o ligante com maior grau de afinidade ao MOR

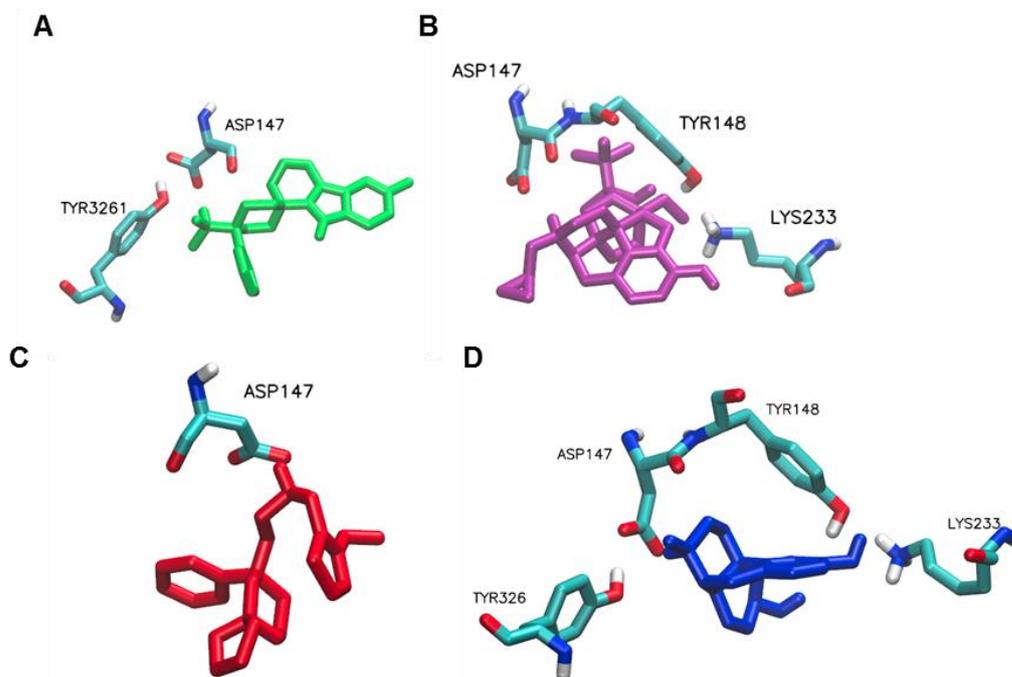


Figura 1: Interação dos ligantes cebranopadol (A), buprenorfina (B), oliceridina (C) e morfina (D) com os seus respectivos resíduos do receptor na forma inativa.

Ao analisar os dados da Figura 1, pode-se perceber que todos os ligantes, com o receptor tanto na forma ativa como inativa, apresentaram interação em comum com o resíduo ASP147 da proteína. Isso se deve ao fato de que esse resíduo é conservado em outros GPCRs e apresenta uma forte tendência a formar pontes salinas com os ligantes. (ELLIS et al., 2018)

5. Conclusão

A partir dos resultados obtidos, pode-se perceber que o ligante buprenorfina apresentou uma maior afinidade pelo MOR no seu estado ativo e inativo, quando comparado com os demais ligantes. Também observa-se que as energias de ligação na forma inativa são menores que na forma ativa, o que condiz com o fato do receptor poder ter sua ativação disparada pelos ligantes, e por apresentar uma diferença pequena, também permite a estabilização do estado ativo.

IV SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXII Semana de Iniciação Científica

21 a 25 de outubro de 2019

Tema: "Desmonte da Pesquisa, Ciência e Tecnologia: repercussões e impactos tecnológicos, sociais e culturais"



6. Agradecimentos

GM Santos e RFS Bezerra agradecem o apoio financeiro da FUNCAP/FECOP/URCA; DM Sena Jr agradece o apoio financeiro do CNPq (Projeto PQ 313407/2017-7).

7. Referências

ELLIS, C. R. et al Predicting opioid receptor binding affinity of pharmacologically unclassified designer substances using molecular docking. Journal Plos One, p. 3-4, 2018.

FERREIRA, L. G. et al. Molecular docking and structure-based drug design strategies. Molecules, v. 20, n. 7, p. 13384-13421, 2015.

GODÓI, I. P. et al. Docking and QM/MM studies of NS2B-NS3pro inhibitors: a molecular target against the dengue virus. Journal of the Brazilian Chemical Society, v. 28, n. 5, p. 895-906, 2017.

LEFKOWITZ, R. J. Historical review: A brief history and personal retrospective of seven-transmembrane receptors. Trends in Pharmacological Sciences, v. 25, n. 8, p. 413-422, Aug 2004.

MADARIAGA-MAZON, A. et al. Mu-Opioid receptor biased ligands: A safer and painless discovery of analgesics? Drug Discov Today, v. 22, n. 11, p. 1719-1729, 2017.

MEIRELES, A. et al. Avaliação do papel de opioides endógenos na analgesia do laser de baixa potência, 820 nm, em joelho de ratos Wistar. Revista Dor, v. 13, n. 2, p. 152-155, 2012.

MUCHTARIDI, M. et al. Molecular Docking and 3D-Pharmacophore Modeling to Study the Interactions of Chalcone Derivatives with Estrogen Receptor Alpha. Pharmaceuticals (Basel), v. 10, n. 4, 2017.

PIEKIELNA-CIESIELSKA, J. et al. Cyclopeptide Dmt-[D-Lys-p-CF3-Phe-Phe-Asp]NH₂, a novel G protein-biased agonist of the mu opioid receptor. Peptides, v. 101, p. 227-233, 2018.

SCHONEBERG, T. et al. Mutant G-protein-coupled receptors as a cause of human diseases. Pharmacology & Therapeutics, v. 104, n. 3, p. 173-206, Dec 2004.

SIUDA, E. R. et al. Biased mu-opioid receptor ligands: a promising new generation of pain therapeutics. Curr Opin Pharmacol, v. 32, p. 77-84, 2017.