

# VI SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA XXIV SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA URCA

13 a 17 de Dezembro de 2021

Tema: “Centenário de Paulo Freire: contribuição da divulgação científica e tecnológica em defesa da vida, da cidadania e da educação”

## ANÁLISE DOS RESÍDUOS QUE COMPÕEM O SÍTIO DE LIGAÇÃO DOS GPCRs DE CLASSE A

Mariana Alves de Castro<sup>1</sup>, Josué Dantas de Sousa<sup>2</sup>, Mira Raya Paula de Lima<sup>3</sup>, Rubem Francisco Silva Bezerra<sup>4</sup>, Diniz Maciel de Sena Junior<sup>5</sup>

**Resumo:** Os GPCRs possuem um papel fundamental na transdução do sinal celular. Isso ocorre devido a associação de ligantes, que podem desencadear a sua ativação ou inibição. Estes ligantes interagem quimicamente com os resíduos que compõem o sítio de ligação dos GPCRs, promovendo mudanças conformacionais importantes que levam à ativação de vias de sinalização específicas. Portanto, o conhecimento destes resíduos e de suas funções após sua interação com ligantes, se torna imprescindível para a compreensão do processo de ativação ou inibição dos GPCRs. Este trabalho tem como finalidade analisar os resíduos identificados a uma distância de até 5 Å do ligante e correlacionar com dados obtidos na literatura científica. Mais de 50% dos resíduos encontrados foram relatados previamente na literatura, sendo considerados fundamentais no processo de interação ligante-receptor entre os GPCRs.

**Palavras-chave:** GPCRs. Sítio de ligação. Interações ligante-receptor.

### 1. Introdução

Os receptores acoplados à proteína G (GPCRs) são uma família de receptores que medeiam a maioria das respostas celulares. (WEIS, 2018). Todos os GPCRs compartilham de uma mesma estrutura composta por sete hélices transmembranares (TM1-7) conectados por três alças extracelulares (ECLs) e três alças intracelulares (ICLs) (WANG, 2020).

A maioria dos GPCRs pode ser agrupada em classes A, B, C e F ou em cinco famílias principais, formando o sistema de classificação GRAFS (Glutamato, Rodopsina, Adesão, Frizzled e Secretina). A grande maioria dos GPCRs pertence à classe A, conhecida como “família semelhante à rodopsina”. (SCHIÖTH; FREDRIKSSON, 2005, WANG, 2020).

---

1 Universidade Regional do Cariri, email: mariana.castro@urca.br

2 Universidade Regional do Cariri, email: josue.dantas.jds@hotmail.com

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

4 Universidade Regional do Cariri, email: rubem.bezerra@urca.br

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

# VI SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA XXIV SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA URCA

13 a 17 de Dezembro de 2021

*Tema: “Centenário de Paulo Freire: contribuição da divulgação científica e tecnológica em defesa da vida, da cidadania e da educação”*

O mau funcionamento dos GPCRs resulta em muitas doenças, como diabetes, obesidade, doenças cardiovasculares, distúrbios neurodegenerativos, inflamação e câncer (Hu, 2017), tornando essa classe um dos maiores alvos de estudos para o desenvolvimento de fármacos, onde mais de 30% dos medicamentos comercializados os têm como alvo (JAKOWIECKI et al. 2020; RASK, 2011).

A maioria dos ligantes (95%) se liga à cavidade de ligação dos GPCRs, localizada na parte central próxima ao terminal N (região extracelular), provocando mudanças conformacionais que podem levar à ativação do receptor. (VASS, et al. 2018; BALDESSARI et al. 2020).

Portanto, o estudo dos resíduos do sítio de ligação destes receptores permitirá um melhor entendimento da interação entre ligante e receptor.

## 2. Objetivo

Analisar os resíduos do sítio de ligação em até 5 Å de distância do ligante, nos diferentes receptores da classe A de GPCRs, considerando os detectados da literatura.

## 3. Metodologia

Foram consideradas estruturas dos receptores cristalizados  $\mu$ -opioide, tanto em seu estado ativo (código PDB: 5C1M) quanto inativo (código PDB: 4DKL),  $\kappa$ -opioide (código PDB: 6B73),  $\delta$ -opioide (código PDB: 4N6H) e FQ-nociceptina (código PDB: 5DHH).

Utilizando o programa VMD 1.9.3 foi feita a listagem dos resíduos que encontram-se a uma distância de até 5Å do respectivo ligante em cada receptor. Em seguida foram extraídos os parâmetros conformacionais de cada resíduo, e foram selecionados os resíduos que apresentaram os ângulos diedros  $\chi_1$  e  $\chi_2$ .

## 4. Resultados

# VI SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA XXIV SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA URCA

13 a 17 de Dezembro de 2021

Tema: “Centenário de Paulo Freire: contribuição da divulgação científica e tecnológica em defesa da vida, da cidadania e da educação”

Na simulação computacional, foram analisados os resíduos que compõem o sítio de ligação da estrutura cristalizada do receptor  $\mu$  opioide que estavam a uma distância de até 5 Å do ligante, tanto no estado ativo quanto inativo. Estes resíduos também foram relatados nos estudos de SENA et al. (2021). Em relação ao receptor  $\kappa$ -opioide, foi observado determinados resíduos do sítio de ligação das estruturas cristalinas e os relatados no trabalho de LEONIS et al (2014). Assim, procede com os demais receptores, com o receptor  $\delta$ -opioide apenas determinados resíduos encontrados condizem com os encontrados na literatura GRANIER, S. et al. (2012). No caso do FQ de nociceptina, foi observado que determinados resíduos condizem com os encontrados na literatura (KOTHANDAN, G et al. 2014; SCHRÖDER, W et al. 2014).

Portanto, pode-se inferir que os resíduos apresentados neste trabalho são aqueles que participam do sítio de ligação independentemente da conformação do receptor, ou seja, as interações entre esses resíduos e os receptivos ligantes ocorrem tanto com o receptor na sua forma ativa quanto na forma inativa.

Na tabela 1, a seguir, estão apresentados os resíduos que são encontrados 5 Å os ligantes, mas não relatados na literatura.

$\kappa$ receptor ativo	$\delta$ receptor inativo	FQ-nociceptina inativo
F114 <sup>2.59</sup>	T285 <sup>6.59</sup>	W116 <sup>23.50</sup>
W124 <sup>23.50</sup>	C303 <sup>7.38</sup>	
V134 <sup>3.28</sup>	G307 <sup>7.42</sup>	
L135 <sup>3.29</sup>		
S211 <sup>45.51</sup>		
V230 <sup>5.42</sup>		
I290 <sup>6.51</sup>		

**Tabela 1** – Os receptores da Classe A de GPCRs; abaixo, são seus respectivos resíduos.

Na tabela 1, é destacado os resíduos que não foram observados na literatura. Isso ocorre, devido a utilização de diferentes metodologias de identificação dos resíduos do sítio de ligação, que pode afetar a identificação dos demais resíduos que o compõem, e como também a utilização de diferentes ligantes nos trabalhos encontrados na literatura.

# VI SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA XXIV SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA URCA

13 a 17 de Dezembro de 2021

Tema: "Centenário de Paulo Freire: contribuição da divulgação científica e tecnológica em defesa da vida, da cidadania e da educação"

Os ângulos diedros do tipo CHI1 foram aferidos dos resíduos pertencentes ao sítio de ligação dos receptores opioides, como pode ser observado na Tabela 2. Foi utilizado a numeração de BW (Ballesteros-Weinstein), para permitir uma melhor comparação entre os receptores.

BW	$\mu$ receptor ativo	$\mu$ receptor inativo	$\kappa$ receptor ativo	$\delta$ receptor inativo	FQ-nociceptina inativo
3.32	-161.17	-144.41	-163.08	-150.48	-157.70
3.33	-78.836	-80.585	-81.429	-79.947	-74.913
3.36	169.66	177.57	177.94	-179.48	-171.44
6.48	-86.688	-76.683	-69.352	-79.465	-78.109
6.51	-172.14	-175.58	-171.35	-168.15	-166.19
6.52	-83.543	-93.314	-82.890	-89.854	-78.886
7.39	-71.254	-58.845	-72.094	-66.392	-38.685
7.43	-69.998	-79.557	-74.351	-70.917	-63.669

**Tabela 2.** Ângulos diedros do tipo CHI1 dos resíduos que compõe o sítio de ligação de receptores opioides.

De acordo com literatura, vários resíduos no sítio de ligação são conservados em todos os receptores opioides, em particular ASP (3,32), TYR (3,33), TRP (6,48), ILE (6,51), HIS (6,52), ILE (7,39), TYR (7,43). (GENTILUCCI, L. et al. 2012).

Observa-se que o ângulo diedro do resíduo ASP (3.32) do receptor  $\mu$  opioide ativo (-161.17°) apresentar pouca variação quando comparado ao ângulo do mesmo resíduo no receptor  $\kappa$  opioide ativo (-163.08°), mas possuem diferenças angulares quando comparadas aos dos resíduos dos receptores  $\mu$  (-144.41°),  $\delta$  (-150.48°), FQ (-157.70°) em seus estados inativos, isso pode estar relacionado por seus estados conformacionais diferirem, considerando que os resíduos sofrem mudanças conformacionais no processo de ativação, e isso está inteiramente interligado ao ângulos diedros.

Outrora, percebe-se que os receptores  $\mu$  opioide e  $\kappa$  opioide em seus estados ativos, possuem semelhanças em seus ângulos diedro. Tal como, os receptores  $\mu$  opioides,  $\delta$  opioide e FQ-nociceptina em seus estados inativos, porém isso restringe ao resíduo ILE (7.39), no receptor FQ-nociceptina que teve

# VI SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA XXIV SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA URCA

13 a 17 de Dezembro de 2021

*Tema: “Centenário de Paulo Freire: contribuição da divulgação científica e tecnológica em defesa da vida, da cidadania e da educação”*

como ângulo diedro ( $-38.685^\circ$ ), divergindo dos resultados dos demais receptores.

## 5. Conclusão

Percebe-se que, as análises comparativas entre os resíduos obtidos das estruturas da classe A de GPCRs com a literatura, fornecem informações importantes sobre os resíduos no sítio de ligação. Observar-se que ângulos diedros variam de acordo com os estados conformacionais dos diferentes receptores, e que o ângulo  $-38.685^\circ$  do resíduo ILE (7.39) no receptor FQ-nociceptina, teve o menor ângulo comparado aos outros receptores. Os parâmetros conformacionais fornecerão subsídios para o desenvolvimento de estudos com estes receptores.

## 6. Agradecimentos

Mariana Alves de Castro agradece ao apoio financeiro do CNPq.

## 7. Referências

GENTILUCCI, L. et al. “Molecular docking of opiates and opioid peptides, a tool for the design of selective agonists and antagonists, and for the investigation of atypical ligand-receptor interactions.” *Current medicinal chemistry*. v.19, n. 11, p. 1587-601, 2012.

GRANIER, S et al. “Structure of the  $\delta$ -opioid receptor bound to naltrindole.” *Nature*. v. 485, n. 7398 p. 400-4, 2012.

HU, G. M; MAI, T.L; CHEN, C. M. Visualizing the GPCR Network: Classification and Evolution. *Scientific Reports*. v. 7, n. 15495, 2017.

JAKOWIECKI, J. et al. Structural diversity in ligand recognition by GPCRs. In: *GPCRs*. Academic Press, p. 43-63, 2020.

KOTHANDAN, G et al. “The nociceptin receptor (NOPR) and its interaction with clinically important agonist molecules: a membrane molecular dynamics simulation study.” *Molecular bioSystems*. v. 10, n. 12, p. 3188-3198, 2014.

# VI SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA XXIV SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA URCA

13 a 17 de Dezembro de 2021

*Tema: "Centenário de Paulo Freire: contribuição da divulgação científica e tecnológica em defesa da vida, da cidadania e da educação"*

LEONIS, G. et al. "Elucidation of conformational states, dynamics, and mechanism of binding in human  $\kappa$ -opioid receptor complexes." *Journal of chemical information and modeling*. v. 54, n. 8, p. 2294-2308, 2014.

RASK, A. M; ALMÉN, M. S; SCHIÖTH, H. B. Trends in the exploitation of novel drug targets. *Nature reviews. Drug Discovery*. v. 10, n. 8, p. 579-590.

SENA, D. M. Jr et al. "Ligand based conformational space studies of the  $\mu$ -opioid receptor." *Biochimica et biophysica acta. General subjects* vol. 1865 n. 3, 2021.

SCHIÖTH H.B; FREDRIKSSON, R. The GRAFS classification system of G-protein coupled receptors in comparative perspective. *General and comparative endocrinology*. v. 142, p.94-101, 2005.

VASS, M. et al. "Chemical Diversity in the G Protein-Coupled Receptor Superfamily." *Trends in pharmacological sciences* vol. 39, n. 5, p. 494-512, 2018.

WANG, D; QU, X; WU, B. Progress in GPCR structure determination, Editor(s): Beata Jastrzebska, Paul S.-H. Park. *GPCRs*, Academic Press, p. 3-22, 2020.

WEIS, W. I; KOBILKA, B. K. The Molecular Basis of G Protein-Coupled Receptor Activation." *Annual review of biochemistry* vol. 87, p. 897-919, 2018.