

# 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”

## MODELAGEM MOLECULAR COMPARATIVA ENVOLVENDO O RECEPTOR $\mu$ -OPIOIDE

Guilherme Mota dos Santos<sup>1</sup>, Mira Raya Paula de Lima<sup>2</sup>, Diniz Maciel de Sena Junior<sup>3</sup>

**Resumo:** O receptor  $\mu$ -opioide (MOR) pertence à classe A dos GPCRs e tem como função principal a mediação da dor e a regulação de processos fisiológicos como a analgesia. Nesse sentido, ele é considerado o principal alvo da morfina e de diversos outros fármacos derivados do ópio. Diversas abordagens no campo da química computacional possibilitam a melhor compreensão dos mecanismos que levam à sua ativação, bem como a elucidação dos mecanismos estruturais envolvidos. Dentre elas, tem-se a dinâmica molecular. Essa técnica consiste em prever como os átomos em um sistema molecular irão se movimentar, considerando as interações com sua vizinhança, podendo assim avaliar características como alterações conformacionais, enovelamento de proteínas e ligação ao ligante de interesse. A mesma, contribui significativamente no desenvolvimento das pesquisas do ramo farmacêutico e na descoberta de novos medicamentos. Neste trabalho foi realizado a preparação prévia de novas estruturas dos receptores a partir do alinhamento das estruturas representativas do receptor  $\kappa$ -opioide com as estruturas intermediárias do MOR obtidas através de trajetórias de dinâmica molecular. Nesse sentido, a partir dos resultados obtidos, pode-se observar que os sistemas MOR(MOP-NLX) apresentaram valor mínimo de RMSD em comparação com os demais sistemas. Além de que foi identificado nesses complexos, choques de contatos entre resíduos presentes na estrutura do MOR complexado com a proteína G, totalizando 34 e 22 choques respectivamente.

**Palavras-chave:** GPCR; Receptor  $\mu$ -opioide; Modelagem molecular; Dinâmica molecular.

### 1. Introdução

O receptor  $\mu$ -opioide (MOR) é uma proteína pertencente à classe A dos GPCRs e tem como função principal a mediação da dor e a regulação de processos fisiológicos como a analgesia (CHANG *et al.*, 2015). O MOR é o principal alvo da morfina e de diversos outros fármacos derivados do ópio (SPETEA *et al.*, 2013). Ao ser ativado, desencadeia uma cascata de sinais que envolve duas vias de sinalização: a da proteína G (responsável pelo processo de analgesia), e a da  $\beta$ -arrestina (relacionada com os efeitos adversos.) (BOHN *et al.*, 1999; ZHOU; BOHN, 2014). Dentre os efeitos indesejáveis produzidos pelo

---

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

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

3 Universidade Regional do Cariri, email: diniz.sena@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"

uso de opioides destacam-se: dependência medicamentosa, náuseas, vômitos, constipação, e depressão respiratória (MADARIAGA-MAZON *et al.*, 2017).

Abordagens estruturais dos GPCRs no campo da química computacional possibilitam a melhor compreensão dos mecanismos que levam à ativação dos mesmos, além de contribuir no desenvolvimento das pesquisas do ramo farmacêutico e na descoberta de novos medicamentos. Diversas técnicas são comumente utilizadas a fim de possibilitar a melhor compreensão dos GPCRs, dentre elas destaca-se uma principal: a dinâmica molecular (ZHOU *et al.*, 2019).

As simulações de dinâmica molecular têm o intuito de prever como os átomos em um sistema irão se movimentar e se posicionar, levando em consideração as interações intermoleculares, alterações conformacionais, enovelamento de proteínas e possíveis ligações.(HOLLINGSWORTH; DROR, 2018) Essas simulações permitem que se construa os modelos estruturais mais prováveis para um composto, com resolução atômica, fazendo com que se possa entender de forma mais clara as mudanças conformacionais.

No caso do MOR, as simulações de dinâmica molecular permitem a construção de novas estruturas. Em estudo realizado por Sena e colaboradores (2021) a partir de simulações de amostragem aprimorada (REST2), foram apresentadas estruturas intermediárias do MOR em complexo com quatro importantes ligantes : Morfina (MOP) ,um agonista total clássico, (CORDER *et al.*, 2017), naloxona (NLX), um antagonista,(NAKAMURA *et al.*, 2020), naloxona benzoil-hidrazona (NBH), um agonista parcial,(OLIANAS *et al.*, 2006) e BU72 (B72), principal ligante em termos de afinidade de ligação.(HUANG, W. *et al.*, 2015). Três desses complexos MOR-(MOP/NBH/NLX) serão abordados nesse estudo, por utilizarem a estrutura do MOR em sua forma inativa.

A proteína G é um dos componentes estruturais principais acoplados aos GPCRs. Dessa forma, essas estruturas, em conjunto, constituem a maior superfamília de proteínas presentes no genoma humano. A estrutura cristalizada mais recente do receptor  $\mu$ -opioide encontra-se acoplada à proteína G correspondente. Entretanto, as estruturas tanto do receptor quanto da proteína

# 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”

G não estão completas. (KOEHL, HU *et al.*, 2018)

Diversos GPCRs, tanto de classes iguais como diferentes apresentam similaridades entre si, o estudo comparativo dessas proteínas possibilita identificar características estruturais conservadas presentes entre as mesmas. Os três subtipos dos receptores opioides,  $\delta$  (DOR),  $\kappa$ (KOR),  $\mu$ (MOR) apresentam um total de 70% de igualdade entre si em relação à estrutura dos seus domínios transmembranares (TM). No caso do MOR e KOR, ambos possuem mais semelhanças, visto que apresentam atividade analgésica devido à sinalização da proteína G. (MAFI *et al.*, 2020a)

As duas estruturas representativas do KOR utilizadas no alinhamento com MOR nesse estudo foram obtidas a partir do artigo de Mafi e colaboradores (2021). Sendo que as mesmas correspondem a trajetórias diferentes (1 e 2), ou seja, sistemas iguais que apresentam comportamento distinto das partículas em termos de posição e velocidade em um determinado tempo específico. (MAFI *et al.*, 2020; NAMBA *et al.*, 2008)

## 2. Objetivos

O presente trabalho teve como principal objetivo construir um modelo funcional do complexo receptor  $\mu$ -opioide (MOR)/ proteína G para ser utilizado em simulações de dinâmica molecular.

Especificamente os interesses desse trabalho são:

- Realizar o alinhamento do MOR com o receptor  $\kappa$ -opioide (KOR), que assim como o primeiro, também forma complexo com a proteína G de acordo com a literatura;
- Investigar a viabilidade dos complexos formados para construção de um sistema refinado MOR-Proteína G.

## 3. Metodologia

Os complexos do receptor opioide com a proteína G foram construídos a partir de estruturas intermediárias do MOR na sua forma inativa, provenientes de trajetórias de dinâmica molecular (MD) realizadas anteriormente por SENA JR *et*

# 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”

*al.*, (2021), alinhadas a estruturas representativas do receptor  $\kappa$ -opioide em complexo com a proteína G, modelados por Mafi e colaboradores (2021).

Os receptores foram dispostos e submetidos ao processo de alinhamento, utilizando o programa *UCSF Chimera* (v. 1.12.) (XU *et al.*, 2019). Após o alinhamento, foi calculado o RMSD das respectivas estruturas considerando as posições dos carbonos alfa (C $\alpha$ ) das estruturas resultantes a partir do alinhamento. Dessa forma, para melhor avaliar a viabilidade dessas estruturas para construção do sistema MOR-Proteína G refinado, serão consideradas as estruturas que apresentarem menores valores de RMSD e menor quantidade de resíduos em choque na interface MOR-proteína G.

## 4. Resultados

Foram obtidos os valores de RMSD referente ao alinhamento do KOR (trajetória 1 e 2) com as estruturas do MOR complexado com os ligantes (Morfina (MOP), Naloxona (NLX) e Naloxona-Benzoilhidrazona (NBH)). A Figura 1 abaixo mostra os sistemas KOR-proteínaG(A) e o MOR-proteínaG após o alinhamento.

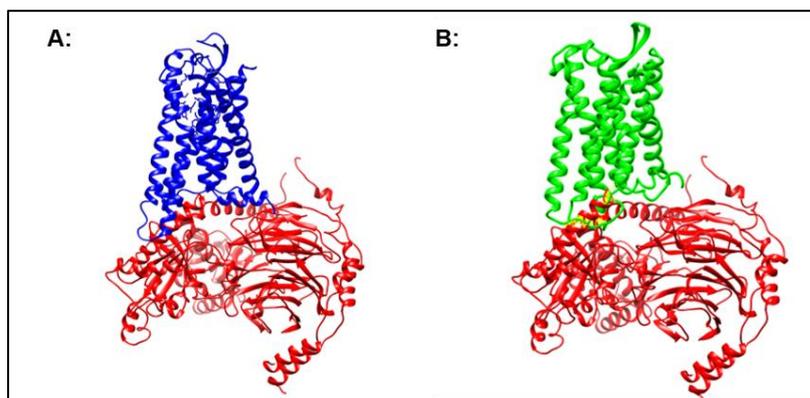


Figura 1: Representação da estrutura dos receptores sendo, (A) referente a estrutura do KOR complexado com a proteína G e (B) referente a estrutura do MOR complexada com a proteína G presente na estrutura do KOR após a realização do alinhamento.

A partir do alinhamento, foi obtida seis estruturas do MOR com o KOR, de modo que a estruturas intermediarias foram complementadas com a proteína G presente na estrutura representativa do KOR. Dessa forma, a partir da análise dos dados de RMSD, observa-se que dentre os sistemas obtidos a estrutura do

# 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”

KOR (trajetória 1) alinhado com o MOR-NLX apresentou menor RMSD (1,115 Å) em relação aos outros sistemas e um total de 22 choques de contato com resíduos presentes entre as estruturas do MOR e a proteína G quando alinhados. Enquanto que o MOR\_MOP teve o menor valor de RMSD (1,159 Å) com a estrutura do KOR (trajetória 2), e um total de 34 choques de contatos com os resíduos.

## 5. Conclusão

A partir dos resultados obtidos, pode-se perceber que os sistemas MOR(MOP-NLX) apresentaram valor mínimo de RMSD quando alinhados a estruturas representativas do KOR, quando comparado com os demais sistemas. Foi identificado os choques de contatos dos resíduos presentes entre os complexos MOR(MOP-NLX) e a proteína G do KOR (trajetória 1 e 2), totalizando 34 e 22 choques de contatos respectivamente. Dessa forma, a partir desses e de outros resultados a partir do alinhamento com novas estruturas representativas, será possível fazer uma seleção mais minuciosa em relação a esses receptores, de modo que os escolhidos serão utilizados como ponto de partida para posteriores análises através de simulações de dinâmica molecular.

## 6. Referências

BOHN, L. M.; LEFKOWITZ, R. J.; GAINETDINOV, R. R.; PEPPEL, K. *et al.* Enhanced morphine analgesia in mice lacking beta-arrestin 2. **Science**, 286, n. 5449, p. 2495-2498, Dec 24 1999.

CHANG, S. D.; MASCARELLA, S. W.; SPANGLER, S. M.; GUREVICH, V. V. *et al.* Quantitative Signaling and Structure-Activity Analyses Demonstrate Functional Selectivity at the Nociceptin/Orphanin FQ Opioid Receptor. **Molecular Pharmacology**, 88, n. 3, p. 502-511, Sep 2015.

CORDER, G.; TAWFIK, V. L.; WANG, D.; SYPEK, E. I. *et al.* Loss of mu opioid receptor signaling in nociceptors, but not microglia, abrogates morphine tolerance without disrupting analgesia. **Nat Med**, 23, n. 2, p. 164-173, Feb 2017.

HOLLINGSWORTH, S. A.; DROR, R. O. Molecular Dynamics Simulation for All. **Neuron**, 99, n. 6, p. 1129-1143, Sep 19 2018.

# 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"

HUANG, W.; MANGLIK, A.; VENKATAKRISHNAN, A. J.; LAEREMANS, T. *et al.* Structural insights into micro-opioid receptor activation. **Nature**, 524, n. 7565, p. 315-321, Aug 20 2015.

KOEHL, A., H. HU, S. MAEDA, Y. ZHANG, Q. QU, J. M. PAGGI, N. R. LATORRACA, D. HILGER, R. DAWSON, H. MATILE, G. F. X. SCHERTLER, S. GRANIER, W. I. WEIS, R. O. DROR, A. MANGLIK, G. SKINIOTIS AND B. K. KOBILKA (2018). "Structure of the micro-opioid receptor-Gi protein complex." **Nature** 558(7711): 547-552.

MADARIAGA-MAZON, A.; MARMOLEJO-VALENCIA, A. F.; LI, Y.; TOLL, L. *et al.* Mu-Opioid receptor biased ligands: A safer and painless discovery of analgesics? **Drug Discov Today**, Jul 22 2017.

NAKAMURA, A.; YASUFUKU, K.; SHIMADA, S.; ARITOMI, H. *et al.* The antagonistic activity profile of naloxone in mu-opioid receptor agonist-induced psychological dependence. **Neurosci Lett**, 735, p. 135177, Sep 14 2020.

NAMBA, A. M.; SILVA, V. B. d.; SILVA, C. H. T. P. d. Dinâmica molecular: teoria e aplicações em planejamento de fármacos. **Eclética Química**, 33, n. 4, p. 13-24, 2008.

OLIANAS, M. C.; CONCAS, D.; ONALI, P. Agonist activity of naloxone benzoylhydrazone at recombinant and native opioid receptors. **Br J Pharmacol**, 147, n. 4, p. 360-370, Feb 2006.

SENA, D. M.; CONG, X.; GIORGETTI, A. Ligand based conformational space studies of the  $\mu$ -opioid receptor. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, p. 129838, 2020/12/26/ 2020.

SPETEA, M.; ASIM, M. F.; WOLBER, G.; SCHMIDHAMMER, H. The micro opioid receptor and ligands acting at the micro opioid receptor, as therapeutics and potential therapeutics. **Curr Pharm Des**, 19, n. 42, p. 7415-7434, 2013.

XU, J.; HU, Y.; KAINDL, J.; RISEL, P. *et al.* Conformational Complexity and Dynamics in a Muscarinic Receptor Revealed by NMR Spectroscopy. **Mol Cell**, 75, n. 1, p. 53-65 e57, Jul 11 2019.

ZHOU, L.; BOHN, L. M. Functional selectivity of GPCR signaling in animals. **Curr Opin Cell Biol**, 27, p. 102-108, Apr 2014.

ZHOU, Q.; YANG, D.; WU, M.; GUO, Y. *et al.* Common activation mechanism of class A GPCRs. **Elife**, 8, Dec 19 2019.