



Modelagem computacional de inibidores moleculares da miostatina humana como estratégia terapêutica para a atrofia muscular

Júlia S. Farias^{1*} (G), Daniel B. Quintanilha¹ (PG) e Hélio F. Dos Santos¹ (PQ)

¹ Núcleo de Estudos em Química Computacional – NEQC, Departamento de Química – Universidade Federal de Juiz de Fora – MG
*julia.soares@estudante.ufjf.br

RESUMO

A proteína GDF-8, conhecida como miostatina (MSTN), é reguladora negativa do crescimento muscular esquelético, estando sua alta expressão associada à atrofia muscular. Diante dos poucos estudos descritos na literatura, este trabalho propôs a avaliação de potenciais inibidores pela técnica de docking molecular, analisando suas interações e a estabilidade dos complexos formados com a MSTN em suas diferentes formas, além da construção de modelos de farmacóforos para inibidores desta via. Os resultados mostraram que os sítios da proteína em sua forma inativa apresentaram resultados menos favoráveis, os resíduos predominantes foram Treonina, Prolina e Valina, com destaque para interações apolares mais estáveis.

Palavras-chave: Miostatina, Atrofia muscular, Inibidores, Docking molecular

Introdução

A miostatina (MSTN) é um membro da família do fator de crescimento transformador (TGF- β) que atua de modo a regular a massa muscular (1). Altos níveis da MSTN na corrente sanguínea estão associados a progressão da atrofia muscular (2). Assim, faz-se necessária a avaliação de mecanismos de inibição da MSTN para o tratamento do crescimento muscular.

Em estudos recentes realizados pelo nosso grupo, avaliou-se o mecanismo de ativação associado à sinalização extracelular da MSTN (3). Com isso, observou-se um epítipo ativo não relatado na literatura para esse sistema, que consiste na etapa final da ativação, onde ocorre um rearranjo conformacional de uma folha β para α -hélice para a liberação do epítipo ativo da MSTN (Figura 1). Sendo assim, é possível propor inibidores moleculares que atuem bloqueando a formação da α -hélice e, com isso, mantendo a proteína inativa.

associados a regulação do crescimento muscular. Além disso, usou-se a epicatequina como controle positivo para os cálculos, devido a comprovada ação dessa molécula como inibidora da MSTN (4). Com isso, foram realizados dockings moleculares dos ligantes nas três formas da MSTN livre. Assim, selecionou-se dois sítios para cada receptor, devido a estrutura dimérica da proteína. Dessa forma, foi possível analisar uma série de 23 ligantes e quais obtiveram melhor interação em cada sítio-receptor.

Experimental

Modelagem das estruturas

Todas os ligantes foram otimizados em nível semi-empírico AM1, utilizando o programa Gaussian 09.

Docking molecular

O receptor inativo foi obtido do PDB 5NTU (5), enquanto o ativo foi obtido do PDB 3HH2. Para a estrutura do receptor intermediário, utilizou-se os resultados das simulações de DM obtidos na ref. (3). Foram realizadas simulações de docking molecular no Autodock 4.2.6 com caixas cúbicas com 60 Å de aresta. Os sítios foram centrados na região dos epítipos ativos de cada conformação da MSTN como está destacado na Figura 1. Para a MSTN inativa, $x = -44,41$, $y = -23,856$, $z = 24,303$; para a MSTN intermediária, $x = -43,343$, $y = 25,595$, $z = 42,689$; para a MSTN ativa, $x = -23,233$, $y = -14,393$, $z = 13,383$. Todos os cálculos foram realizados com o protocolo padrão do software.

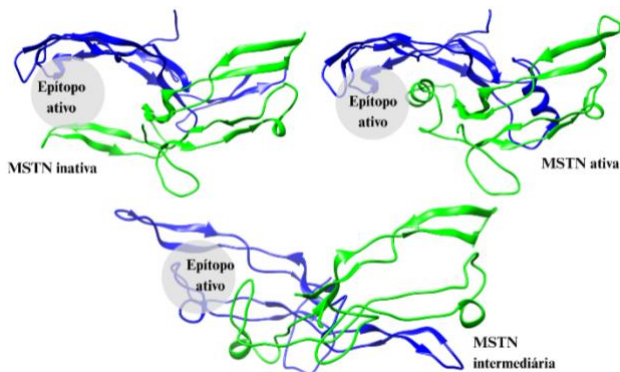


Figura 1. Destaque para o epítipo ativo principal da MSTN nas conformações inativa, intermediária e ativa.

Dessa forma, selecionaram-se 22 compostos derivados de pirazóis, pirazinas e anéis aromáticos fundidos os quais são



Com base nos dockings realizados, analisou-se as energias de interação (ΔG_{lig}) e as constantes de inibição (K_i) em comparação com o padrão epicatequina. Dentre os complexos analisados, o que apresentou-se mais promissor em relação ao padrão foi o ligante A4 com a MSTN ativa, com ΔG_{lig} equivalente a -8,24 kcal/mol. A epicatequina, nesse mesmo sítio, apresentou um ΔG_{lig} de -5,76 kcal/mol. Como pode ser visto na Figura 3, o arranjo mais aberto do ligante A4 possibilitou uma interação com uma maior variedade de resíduos. Além disso, vale destacar que, devido à natureza apolar do ligante A4, foi observado um elevado número de interações do tipo π , o que auxiliou na estabilização do arranjo do ligante no sítio.

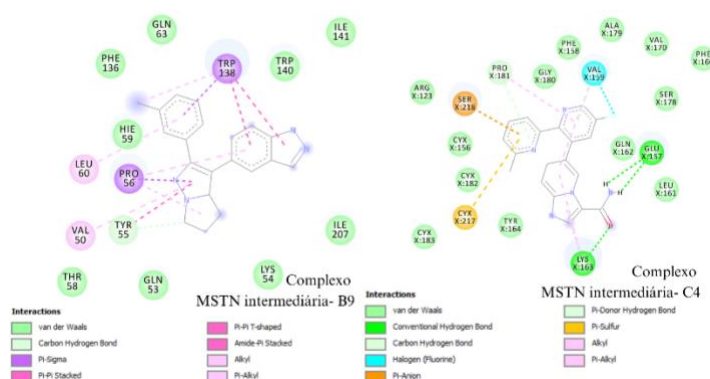


Figura 3. Perfil de interação do ligante A4 e da referência com a MSTN ativa.

Em relação ao receptor da MSTN inativa, observou-se resultados menos favoráveis em comparação aos demais. Nesse sistema, apenas B6, B7, B8, B9, C4 e C7 apresentaram ΔG_{lig} mais efetivo que a referência. Isso já não aconteceu nos sítios dos receptores intermediários e ativos, uma vez que, em todos os casos, os compostos apresentam energias de interação mais favoráveis do que a epicatequina. Dessa forma, pode-se inferir que os ligantes avaliados não apresentam tendência de interagir com a MSTN em sua conformação inativa, indicando que eles não seriam efetivos para o bloqueio da formação da α -hélice. No entanto, a formação de complexos estáveis com a forma ativa e intermediária indica que é possível que esses ligantes formem um complexo não covalente estável com a MSTN e impeça interação com os receptores celulares.

De modo geral, os aminoácidos que mais interagiram nos complexos estudados foram a Thr que se fez presente em 61 complexos (23 na MSTN ativa, 20 na intermediária e 18 na ativa), a Pro que se fez presente em 64 complexos (44 na MSTN ativa, e 20 na MSTN intermediária) e a Val que se fez presente em 65 complexos (43 na MSTN ativa, 22 na intermediária).

Além disso, a polaridade mostrou-se relevante no poder inibitório dos diferentes ligantes, tendo por análise os complexos com a MSTN intermediária. Observa-se que dois aminoácidos, Val159 e Ser218, mostram-se presentes em quase todos os complexos do sítio em questão, exceto pelo B9 ($\Delta G_{\text{lig}} = -6,54$ kcal/mol). Dessa forma, realizando a análise destes complexos, observou-se epicatequina ($\Delta G_{\text{lig}} = -5,99$ kcal/mol), C1

(pior resultado de interação no sítio, $\Delta G_{\text{lig}} = -6,4$ kcal/mol), C4 (melhor resultado de interação, $\Delta G_{\text{lig}} = -8,02$ kcal/mol) e A1 (mais próximo da média de energia do sítio, $\Delta G_{\text{lig}} = -7,3$ kcal/mol). Sendo assim, foi possível concluir que complexos com interações polares e apolares, como o caso do C4, apresentaram maior potencial inibitório que complexos com apenas interações apolares, como é o caso do B9.

Conclusões

Dessa forma, verificou-se que os resíduos que tiveram interação na maioria dos complexos foram Thr, Pro e Val, com forças de Van der Waals como interações predominantes. Além disso, observou-se que os sítios que tiveram energias de interação mais favoráveis que o padrão foram ambos da MSTN intermediária e ativa, indicando a possibilidade dos ligantes atuarem na inibição durante a etapa final do processo de ativação da MSTN. Em relação a estrutura inativa, os ligantes apresentaram resultados pouco favoráveis indicando que essa conformação não é um bom alvo para inibição desses ligantes. Por fim, futuramente, pretende-se realizar estudos de dinâmica molecular com os complexos mais estáveis a fim de verificar o comportamento destes na inibição da proteína em condições fisiológicas.

Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer as agências FAPEMIG (APQ-01772-24), CNPq (307018/2021-0) e CAPES pelo apoio contínuo ao nosso laboratório.

Referências

1. M.-M., Chen. et al. *Front. Cell Dev. Biol.* 2021, 9, 785712.
2. M. Schuelke et al., *N. Engl. J. Med.* 2004, 350, 2682–2688
3. D. B. Quintanilha & H. F. Dos Santos. *J. Chem. Inf. Model.* 2025, 65(13), 7039–7053.
4. Gabriela G.-S., et al. *J. Nutr. Biochem.* 2014, 25(1), 91 – 94.
5. T. R. Cotton; G. Fischer; X. Wang et al., *EMBO J.* 2018, 37, 367–383.