

Relação estrutura-atividade de peptídeos inibidores da miostatina humana: Uma abordagem para o tratamento da atrofia muscular

Daniel B. Quintanilha^{1*} (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

*danielbquintanilha@estudante.ufjf.br

RESUMO

A miostatina (MSTN) é uma proteína parácrina presente na musculatura estriada esquelética que atua como regulador negativo do crescimento muscular, ou seja, elevadas concentrações dessa proteína estão associadas à atrofia muscular no indivíduo. No presente trabalho foram avaliados 30 peptídeos com potencial ação contra a MSTN, de forma a determinar os principais fatores que contribuem para estabilização dessa interação, e com isso, construir um modelo de estrutura-atividade para o desenvolvimento de novos peptídeos terapêuticos com alvo na MSTN. Foram realizadas alterações no peptídeo de referência, o qual consiste na região ativa do inibidor natural da MSTN, com objetivo de avaliar a influência dos aminoácidos hidrofóbicos na estabilização da interação com o epítipo ativo da MSTN. Observou-se que os resíduos I10, I13, I17 e L18 são de crucial importância na estabilização do sistema.

Palavras-chave: Miostatina, Atrofia muscular, Inibidores, Peptídeos terapêuticos.

Introdução

A miostatina (MSTN) é uma miocina parácrina presente na matriz extracelular da musculatura estriada esquelética, atuando como um regulador negativo do crescimento muscular, onde altas expressões dessa proteína está associado a atrofia muscular (1). Em estudos recentes conduzidos pelo nosso grupo, foi avaliado o processo molecular de ativação da MSTN humana com o objetivo de determinar os resíduos responsáveis por manter a MSTN inativa (2). Dessa forma, foi possível observar que peptídeos derivados do inibidor natural da MSTN, podem ser usados como forma de bloquear a interação da proteína com seu receptor celular (2) (Figura 1).

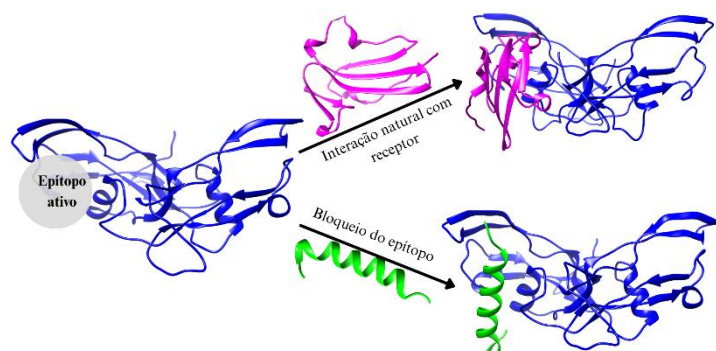


Figura 1. Comparação do processo natural de interação da MSTN com o receptor celular e o processo de inibição por peptídeos.

O presente trabalho tem por objetivo avaliar o modo de interação de 30 peptídeos relatados na literatura com ação contra a MSTN livre (3). Para isso foram realizadas simulações de dinâmica molecular (DM) com objetivo de determinar a importância de cada resíduo individual para a afinidade global do peptídeo, e propor um modelo de estrutura-atividade para

peptídeos inibidores da MSTN.

Experimental

a) Seleção dos peptídeos

Os peptídeos de referência foram selecionados a partir do trabalho de Takayama e colaboradores (3), os quais foram propostos utilizando a região ativa do inibidor natural da MSTN. A nomenclatura dos peptídeos é feita de acordo com o resíduo o qual foi substituído na referência, exemplo: L(18)F indica que o resíduo L18 foi substituído por F18. A sequência do peptídeo de referência é WRQNTRYSRIEAIKIQILSKLRL.

b) Modelagem dos peptídeos

Todas as estruturas foram modeladas com auxílio do software Alpha Fold 3 e otimizadas por meio do protocolo de DM descrito no tópico (d) com objetivo de relaxar as estruturas e minimizar a energia dos ligantes antes de realizar a docagem no receptor.

c) Docking molecular

Todos os complexos peptídeo – MSTN foram obtidos por meio do processo de docking molecular com auxílio do software Autodock Vina. O centro da caixa foi definido com objetivo de contemplar toda região do epítipo da MSTN ($x = -23,233$, $y = -14,393$, $z = 13,383$) e os cálculos foram realizados com o protocolo padrão do software.

d) Dinâmica molecular

Todos as simulações foram realizadas com o campo de força ff19SB e o modelo de solvente TIP3P seguindo o mesmo protocolo descrito a seguir. (I) otimização do solvente; (II) otimização do sistema completo; (III) aquecimento escalonado de 50 a 310 K por 3 ns ($\tau = 2$ fs), com as ligações entre os átomos da proteína restritas com uma constante de força de $10,0 \text{ kcal mol}^{-1} \text{ \AA}^{-2}$; (IV) equilibração



da densidade à 310 K por 1,4 ns ($\tau = 1$ fs), enquanto a constante de força de restrição do sistema foi gradualmente diminuída a zero e (V) produção final de 500 ns ($\tau = 2$ fs) com o sistema em condições fisiológicas.

Resultados e discussão

De acordo com os ligantes disponíveis na literatura, avaliou-se a importância dos resíduos L, I e A presentes na região ativa do inibidor natural da MSTN. Esses resíduos foram avaliados devido à natureza hidrofóbica do epítipo ativo do receptor, o qual forma um complexo molecular com o inibidor natural por meio de forças de Van der Waals com os resíduos em questão. Dessa forma, os melhores complexos obtidos com os cálculos de docking molecular foram submetidos a simulações de DM em vista de observar a influência de cada resíduo, em cada peptídeo, na definição do modo de interação com a MSTN.

A Figura 2 mostra uma decomposição por resíduo da energia MM-GB/SA para os 30 peptídeos avaliados, as cores deslocadas ao verde indicam que o resíduo contribuiu positivamente para a estabilidade do complexo e em vermelho contribuíram negativamente. Com isso observa-se que alguns resíduos se mantiveram, na maioria dos complexos, contribuindo positivamente para a estabilização dos complexos. Obtiveram destaque os resíduos I13, I17 e L18 que mesmo quando sofreram alterações por Leu e Ile, respectivamente, não deixaram de fortemente interagir com a MSTN. Sendo assim, pode-se inferir que os resíduos mais apolares auxiliam no ancoramento com o sítio, independente do tipo de resíduo em questão.

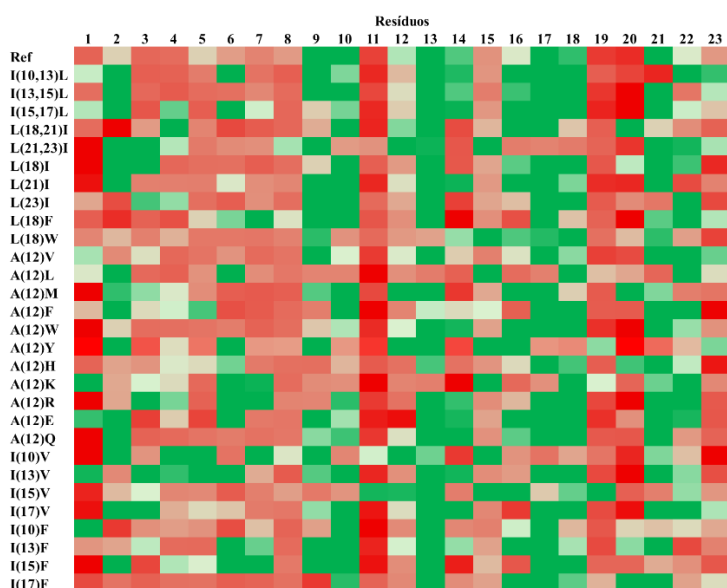


Figura 2. Decomposição por resíduo da energia de interação dos ligantes com a MSTN ativa. As cores variando do verde ao vermelho indicam, respectivamente, que os resíduos estabilizam ou desestabilizam a interação ligante – receptor.

Além dos resultados obtidos por meio da avaliação energia de interação por resíduo, foram analisados também os contatos e as

ligações de H formados com a MSTN ao longo das simulações. A partir de uma análise conjunta desses resultados com a afinidade de cada resíduo nos diferentes complexos mostrados na Figura 1, foi possível construir um modelo geral de estrutura-atividade para peptídeos de tamanho similar com alvo na MSTN livre (Figura 3).

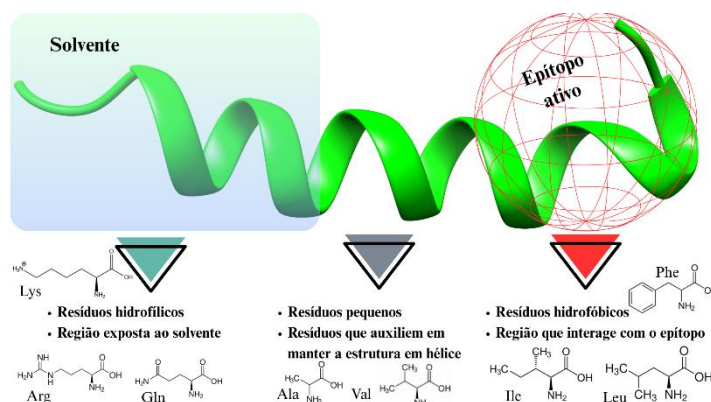


Figura 3. Modelo geral de estrutura-atividade proposto para peptídeos pequenos com alvo no epítipo da MSTN ativa.

Como pode ser visto na Figura 3, os resultados possibilitaram dividir o peptídeo base em 3 subregiões, na qual uma está diretamente exposta ao solvente, outra ao epítipo e um domínio intercalador. Notou-se que os resíduos na região exposta ao solvente não apresentam tendência de interagir fortemente com a MSTN, sendo assim é possível substituí-los por resíduos polares que incrementem a interação com o solvente e estabilizem o complexo. Em relação aos resíduos direcionados ao epítipo, observou-se que não há diferença significativa no tipo de resíduo presente na região, desde que ele tenha uma natureza apolar (Leu, Ile, Phe, etc). Por fim, em relação a região intercaladora, não foram observados efeitos significativos que justifiquem um foco nessa região, portanto recomenda-se apenas que mantenha a estrutura em hélice, a qual favorece a conformação adequada ao sítio.

Conclusões

A partir dos resultados obtidos foi possível concluir que os resíduos nas posições 9, 10, 13, 14, 16, 17, 18 e 21 são de crucial importância para uma efetiva interação com o receptor. Com exceção dos resíduos R9 e Q16, os demais em destaque apresentam natureza hidrofóbica (Ile e Leu), ressaltando a importância dessas interações na afinidade do inibidor. Em relação as substituições, os ligantes L(21)I, I(13)V e I(10,13)L apresentaram melhores resultados de inibição. Além disso os resultados indicam que é possível realizar substituições com resíduos não canônicos de forma a aprimorar a interação com a região ativa da proteína.

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. H. Baig, et al. *Front. Physiol.* (2022). 13, 876078.
2. D. B. Quintanilha & H. F. Dos Santos. *J. Chem. Inf. Model.* 2025, 65(13), 7039–7053.
3. K. Takayama, et al. *ACS Med. Chem. Lett.* (2017), 8(7), 751–756.