



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA E BIOLOGIA MOLECULAR
GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

LUCA MILÉRIO ANDRADE

**BIOQUÍMICA QUÂNTICA DA DOPAMINA NOS RECEPTORES
DOPAMINÉRGICOS D2 E D3**

**FORTALEZA
2017**

LUCA MILÉRIO ANDRADE

**BIOQUÍMICA QUÂNTICA DA DOPAMINA NOS RECEPTORES
DOPAMINÉRGICOS D2 E D3**

Trabalho de Final de Curso apresentado ao Programa de Graduação em Biotecnologia, pertencente ao Centro de Ciências da Universidade Federal do Ceará, como parte do requisito para obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Valder Nogueira Freire.

FORTALEZA
2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

A568b Andrade, Luca Milério.

Bioquímica quântica da dopamina nos receptores dopaminérgicos D2 e D3 / Luca Milério
Andrade. – 2017.
82 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro
de Ciências, Curso de Biotecnologia, Fortaleza, 2017.

Orientação: Prof. Dr. Valder Nogueira Freire.

1. Dopamina. 2. Receptores Dopaminérgicos. 3. Bioquímica quântica. 4. MFCC. 5. DFT. I.
Título.

CDD 661

LUCA MILÉRIO ANDRADE

**BIOQUÍMICA QUÂNTICA DA DOPAMINA NOS RECEPTORES
DOPAMINÉRGICOS D2 E D3**

Monografia apresentada ao Programa de Graduação em Bacharelado em Biotecnologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito à obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia. Área de concentração: Biologia Computacional.

Aprovada em: 24/11/2017.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Valder Nogueira Freire (orientador)
(Universidade Federal do Ceará)

Prof. Dr. José Hélio Costa
(Universidade Federal do Ceará)

Dr. Ito Liberato Barroso-Neto
(Universidade Federal do Ceará)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por ter me dado força para continuar e seguir em frente principalmente nos momentos mais difíceis.

Aos meus pais, Daniella e Glauber, por estarem sempre ao meu lado dispostos a me ajudar em toda e qualquer situação. Obrigado por todos os ensinamentos, por todos os puxões de orelha, todo o carinho, afeto e amor. Vocês são os meus maiores exemplos.

À minha irmã Laura por trazer uma enxurrada de alegria e felicidade para a minha vida. Obrigado por todos os dias de algum modo me ensinar a ser uma pessoa melhor e tornar a minha vida mais agradável e divertida.

À minha bisavó Maria Eliete, por todo o amor imensurável. Obrigado por ter me recebido em sua casa ao longo do mês de setembro de uma forma tão acolhedora e carinhosa. Obrigado por nunca ter medido esforços em prol da minha felicidade.

Aos meus familiares, que sempre me deram apoio quanto à escolha de profissão e me deram força para seguir meus sonhos.

Ao professor Valder, por ter aceito me orientar e desde o primeiro minuto ter me recebido tão bem no laboratório. Obrigado pela confiança e pelo suporte necessário para a execução da pesquisa. Obrigado também pela disponibilidade em esclarecer dúvidas, pelas explicações e pela oportunidade de ser bolsista.

Obrigado a todos os amigos e parceiros do Laboratório de Ciência e Tecnologia de Biomateriais (LCTB): Matheus Girão, Larisse Maia, Letícia Cavalcante, Thais Ferreira, Ito Liberato, Eduardo Salviano, Bruno Lopes, Geancarlo Zanatta e Lucas Brito. Obrigado pelos ensinamentos e pelas brincadeiras e conversas descontraídas. Cada um acrescentou e contribuiu de forma única para a minha vida.

À banca por aceitar me avaliar, pela disponibilidade de tempo e pelas sugestões e contribuições positivas em relação ao meu trabalho.

Aos colegas que fiz no Laboratório de Proteínas Vegetais de Defesa (LPVD) durante o ano de 2014-2015 e que contribuíram para a minha formação acadêmica: Anna Lídia Valera, Rodolpho Guedes, Pedro Filho, Fredy Davi, Thiago Fernandes e Handerson Ribeiro. E em especial ao professor Tadeu, por ter me dado as primeiras direções e orientações na iniciação científica.

Aos amigos que fiz durante minha graduação: Brenda Fontinele, Dayane Guerra, Jackson Lima, João Pedro Viana, Lucas Lopes, Éder Lopes, Chris Verissimo,

Ingrid Queiroz, Patrícia Gomes, Carol Dantas e Ewerton Lima, Viviane Macedo e Camila Sillos. Obrigado por compartilhar comigo momentos de tensão, de alegria, de euforia e de alívio, vividos ao longo desse tempo.

Ao grupo “Reveladores”: Priscila Paiva, Ludmilla Freire, Guilherme Ruben, Débora Albuquerque, Amanda Dias, Eduardo Cunha, Juliany Fátima, Janise Rodrigues. Obrigado pela parceria, cumplicidade, afeto e apreço ímpar de cada um desde o primeiro minuto que conheci vocês.

Aos amigos que fiz ao longo da minha vida, em especial: Messias Borges, Italo Gothardo, Felipe Macário, Ian Moura, Ilya Moura e Matheus Sebbe.

Ao Gilmar, secretário do curso de Biotecnologia. Obrigado pela disponibilidade, pela agilidade em resolver os meus problemas, pelas conversas descontraídas e pela atenção.

À coordenação do curso de Biotecnologia pelas orientações durante toda a minha trajetória na graduação.

Aos professores do curso de Biotecnologia pela máxima dedicação em oferecer um ensino de qualidade e de alto nível.

Ao curso de Biotecnologia pela oportunidade de crescimento e de realização pessoal.

À FUNCAP, pela concessão da bolsa e financiamento para realização da pesquisa. Ao CNPq e CAPES pelo apoio financeiro para a realização dos experimentos.

“Todo grande progresso da ciência resultou
de uma nova audácia da imaginação. ”

John Dewey

RESUMO

A dopamina é um neurotransmissor responsável pela sensação de bem-estar, prazer, felicidade e está associado ao sistema de recompensa do corpo humano. Estes efeitos surgem a partir da sua interação com receptores específicos localizados nos neurônios pós-sinápticos. Os receptores D2 e D3 são considerados alvos em tratamentos envolvendo antipsicóticos, apresentando, entretanto, efeitos extrapiramidais indesejados aos pacientes. Tais efeitos estão relacionados a interação não-seletiva de compostos farmacológicos aos dois receptores. A estrutura cristalizada do D3 e métodos de bioquímica quântica permitem traçar um perfil de interação destes receptores com a dopamina. A dopamina foi submetida a *docking* molecular nas estruturas de D2 e D3, apresentando maior energia de interação em D3 que D2. Dinâmica molecular foi realizada com a pose mais adequada obtida a partir do *docking*. Houve pequena variação de RMSD da dopamina ao longo da dinâmica, indicando estabilidade do sistema. As coordenadas finais foram minimizadas e utilizadas para o cálculo quântico, adotando-se a metodologia do MFCC (Fracionamento Molecular com Capas Conjugadas). Os cálculos demonstraram a importância dos resíduos Asp114/-24,92 kcal/mol (Asp110/-23,80 kcal/mol) na ligação da dopamina aos receptores D2 e D3. Outros resíduos também apresentaram importância, como: Val115 (Val111), Phe389 (Phe345) e Ile184 (Ile183). His349/-9,89 kcal/mol (His393/-2,50 kcal/mol) apresentaram grande diferença de energia de ligação entre si e, enquanto His349 situou-se a 2,50 Å da dopamina, His393 ficou a 3 Å. As diferenças de energia de ligação encontradas entre alguns resíduos equivalentes da estrutura primária das duas proteínas ocorreram devido às diferenças estruturais entre as duas estruturas, e também pelas diferentes conformações da dopamina nos dois complexos. A energia de ligação total da dopamina em D2 (-70,06 kcal/mol) foi praticamente igual que em D3 (-66,53 kcal/mol). Os cálculos avaliam a energia do estado único de ligação, levando em consideração a entalpia da ligação. Isto explica em parte o conflito existente entre dados obtidos *in silico* e experimentais, que afirmam a maior afinidade da dopamina ao D3. Novos testes devem ser realizados a fim de se explicar de maneira mais realista a relação entre os receptores e a dopamina.

Palavras-chave: dopamina; receptores dopaminérgicos; MFCC.

ABSTRACT

Dopamine is a neurotransmitter responsible for the sense of well-being, pleasure, happiness, and is associated with the reward system of the human body. These effects arise from their interaction with specific receptors located in the postsynaptic neurons. D2 and D3 receptors are considered targets in antipsychotic treatments, however, they lead to undesirable extrapyramidal effects to patients. Such effects are related to the non-selective interaction of pharmacological compounds with the two receptors. The crystallized structure of D3 and quantum biochemistry methods allow us to trace an interaction profile of these receptors with dopamine. Dopamine was submitted to molecular docking in the D2 and D3 structures, presenting higher interaction energy in D3 than D2. Molecular dynamics was performed with the most adequate pose obtained from the docking. There was little variation of dopamine RMSD throughout the dynamics, indicating system stability. The final coordinates were minimized and used for the quantum computation, adopting the MFCC methodology (Molecular Fractionation with Conjugated Caps). The calculations demonstrated the importance of Asp114/-24.92 kcal/mol (Asp110/-23.80 kcal/mol) residues on dopamine bound to D2 and D3 receptors. Other residues also presented importance, examples being: Val115 (Val111), Phe389 (Phe345) and Ile184 (Ile183). His349/-9.89 kcal/mol (His393/-2.50 kcal/mol) showed a large energy difference in bound to dopamine and, while His349 was at 2.50 Å of dopamine, His393 was at 3 Å. The bound energy differences found between some equivalent residues of the primary structure of the two proteins occurred due to the structural differences between the two structures, as well as the different conformations of dopamine in the two complexes. The total bound energy of dopamine in D2 (-70.06 kcal/mol) was practically the same as in D3 (-66.53 kcal/mol). The calculations evaluate the energy of the single bond state, taking into account bond enthalpy. This explains in part the conflict between data obtained in silico and experimental, which affirm the greater dopamine's affinity with D3. New tests should be performed in order to more realistically explain the relationship between receptors and dopamine.

Keywords: dopamine; dopaminergic receptors; MFCC.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Estrutura existente na comunicação entre dois neurônios.....	17
Figura 2	– Vias dopaminérgicas no sistema nervoso central.....	20
Figura 3	– Síntese da dopamina a partir da tirosina (GOLAN <i>et al.</i> , 2009)..	21
Figura 4	– Atuação das duas classes de receptores dopaminérgicos (STAHL, 2017).....	23
Figura 5	– A localização (azul) a partir de um corte coronal das cinco subclasses de receptores de dopamina no cérebro humano. (GOLAN <i>et al.</i> , 2009).....	23
Figura 6	– Árvore evolutiva dos receptores acoplados a proteína G (GRAHAM, 2009).....	24
Figura 7	– Metodologia algébrica adotada para a obtenção da energia de ligação entre determinado resíduo e ligante.....	37
Figura 8	– Estudo de protonação da dopamina por meio do programa <i>Marvin Sketch</i>	39
Figura 9	– Estrutura química da dopamina com seus devidos átomos numerados e divididos.....	40
Figura 10	– Gráfico do potencial eletrostático plotado sobre uma densidade eletrônica da dopamina visualizado a partir do programa Materials Studio.....	41
Figura 11	– Alto nível de identidade da região envolvendo as hélices transmembranares e as alças dos receptores D2 e D3.....	42
Figura 12	– Sobreposição entre eticloprida e a dopamina nos receptores D2 e D3.....	44
Figura 13	– Sítio de ligação da dopamina nos receptores D2 e D3 com alguns resíduos equivalentes na sequência primária entre as duas proteínas visualizados a partir do programa PyMOL.....	44

Figura 14	– Desvio quadrático médio (root-mean-square deviation) das posições atômicas da dopamina durante a dinâmica.....	46
Figura 15	– Posição da dopamina nos complexos após os cálculos de docking e após as dinâmicas.....	47
Figura 16	– Conformação da dopamina após as simulações nos receptores D2 e D3.....	47
Figura 17	– Mudança na orientação de alguns resíduos do sítio de interação deixados flexíveis ao longo da dinâmica.....	48
Figura 18	– Diferença de posicionamento ao final das simulações entre resíduos equivalentes da estrutura primária dos dois receptores dopaminérgicos (D2 e D3).....	48
Figura 19	– Perfil de interação entre a dopamina e os receptores dopaminérgicos D2 e D3 demonstrado a partir do painel BIRD.....	50
Figura 20	– Comparação entre as posições após as simulações entre os resíduos equivalentes His393 (His349) e a dopamina.	51
Figura 21	– Comparação entre as posições após as simulações entre os resíduos equivalentes Glu95 (Glu90) e a dopamina.....	52
Figura 22	– Visualização das distâncias traçadas entre os resíduos de D2 e a dopamina no complexo D2-dopamina.....	54
Figura 23	– Visualização das distâncias traçadas entre os resíduos de D3 e a dopamina no complexo D3-dopamina.....	54
Figura 24	– Contribuição relativa de cada intervalo de raio na energia de interação dos complexos D2-dopamina e D3-dopamina.....	55
Figura 25	– Gráfico de energia total envolvendo os complexos D2-dopamina e D3-dopamina.....	56

Figura 26	– Comparação entre as posições após as simulações entre os resíduos equivalentes Asp80 (Asp75) e a dopamina.....	58
Apêndice D	– Resíduos que se encontraram fora da interface de 10 Å usada para os cálculos quânticos no complexo D2–dopamina e D3 – dopamina.....	VI

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	– Principais substâncias com propriedades neurotransmissoras ou neuromoduladoras (LOPES <i>et al.</i> , 1998).....	18
Quadro 2	– Receptores D2 e D3 com suas funções listadas dentro do Sistema Nervoso Central (AYANO, 2016).....	26
Quadro 3	– Poses geradas a partir dos cálculos de <i>docking</i> com suas respectivas energias de ligação.....	43
Apêndice A	– Descrição detalhada dos resíduos contabilizados no painel BIRD e envolvidos no complexo D2-dopamina.....	I
Apêndice B	– Descrição detalhada dos resíduos contabilizados no painel BIRD e envolvidos no complexo D3-dopamina.....	II
Apêndice C	– Distribuição sob uma interface de 10 Å dos resíduos equivalentes na estrutura primária dos receptores D2 e D3 e suas energias de ligação com a dopamina.....	III

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	17
1.1	Fundamentos da neurociência.....	17
1.2	Dopamina.....	19
1.3	Receptores dopaminérgicos.....	22
1.3.1	Os receptores D2 e D3.....	25
1.4	Biologia computacional.....	27
1.4.1	Métodos clássicos.....	28
1.4.1.1	Atracamento molecular.....	28
1.4.1.2	Dinâmica molecular.....	29
1.4.2	Métodos quânticos.....	30
1.4.2.1	MFCC + DFT.....	30
2.	OBJETIVOS	32
2.1	Objetivos gerais	32
2.2	Objetivos específicos	32
3.	METODOLOGIA.....	33
3.1	Obtenção das estruturas tridimensionais.....	33
3.2	Otimização das estruturas dos receptores.....	33
3.3	Obtenção e otimização da dopamina.....	34
3.4	Docking molecular da dopamina nos receptores.....	34
3.5	Dinâmica molecular dos complexos D2/D3 – dopamina.....	34

3.5.1	<i>Análise de RMSD.....</i>	35
3.6	<i>Análise das interações a nível quântico.....</i>	36
3.6.1	<i>O painel BIRD.....</i>	37
3.6.2	<i>Avaliação da energia total.....</i>	38
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	39
4.1	<i>Análise estrutural da dopamina.....</i>	39
4.2	<i>Análise estrutural dos receptores dopaminérgicos D2 e D3.....</i>	41
4.3	<i>Docking molecular da dopamina nos receptores D2 e D3.....</i>	43
4.4	<i>Dinâmica molecular dos complexos D2/D3 – dopamina.....</i>	45
4.5	<i>Análise das interações a nível quântico.....</i>	48
4.5.1	<i>O painel BIRD.....</i>	49
4.5.2	<i>A energia total de interação.....</i>	54
5.	CONCLUSÕES.....	60
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	62
	APÊNDICE A - DESCRIÇÃO DETALHADA DOS RESÍDUOS I CONTABILIZADOS NO PAINEL BIRD E ENVOLVIDOS NO COMPLEXO D2-DOPAMINA.....	
	APÊNDICE B - DESCRIÇÃO DETALHADA DOS RESÍDUOS II CONTABILIZADOS NO PAINEL BIRD E ENVOLVIDOS NO COMPLEXO D3-DOPAMINA.....	
	APÊNDICE C - DISTRIBUIÇÃO SOB UMA INTERFACE DE 10 Å III DOS RESÍDUOS EQUIVALENTES NA ESTRUTURA PRIMÁRIA	

**DOS RECEPTORES D2 E D3 E SUAS ENERGIAS DE LIGAÇÃO
COM A DOPAMINA.....**

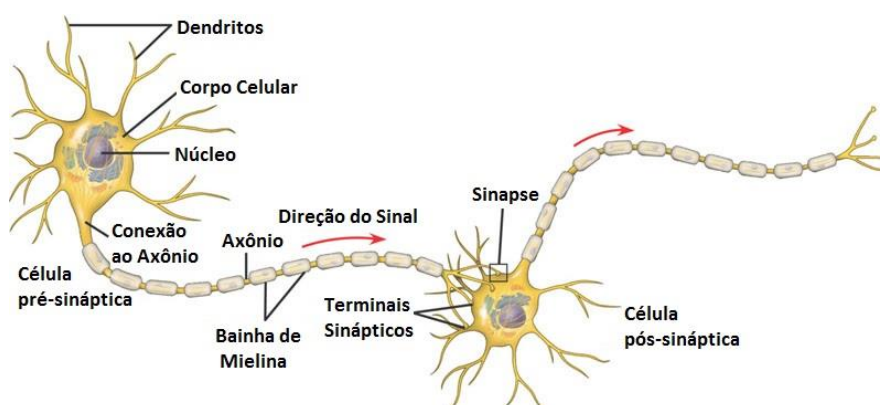
**APÊNDICE D – RESÍDUOS QUE SE ENCONTRARAM FORA DA VI
INTERFACE DE 10 Å USADA PARA OS CÁLCULOS QUÂNTICOS
NO COMPLEXO D2-DOPAMINA E D3-DOPAMINA.....**

1. INTRODUÇÃO

1.1 Fundamentos da neurociência

O sistema nervoso, formado por bilhões de neurônios agrupados, produz e regula diversos aspectos fisiológicos do corpo humano. Os neurônios interagem entre si, recebendo e transmitindo informações, fazendo com que as mesmas sejam processadas e armazenadas (KANDEL *et al.*, 2004). A figura 1 demonstra este processo. O cérebro contém ao seu redor 10^{11} neurônios e cada um deles formam conexões, chamadas de sinapses, com até duzentos mil outros neurônios (KUFLER; NICHOLLS; MARTIN, 1984). Um único neurônio pode ser influenciado por diferentes estímulos oriundos de outros neurônios. Canais iônicos como os de sódio e potássio presentes nos neurônios são responsáveis pelo desenvolvimento do potencial de ação característico da transmissão de sinal entre células nervosas. Os canais de sódio permitem a entrada de Na^+ , causando a despolarização da célula e gerando o potencial de ação. Já os canais de potássio permitem a saída de K^+ , gerando assim a repolarização da célula e o reestabelecimento do potencial de repouso (PURVES, 2012; REVEST & LONGSTAFF, 1998). As informações contidas nos sinais gerados irão depender do balanço dos potenciais excitatórios e inibitórios gerados anteriormente pelo potencial de ação dos neurônios transmissores da mensagem (KANDEL *et al.*, 2004).

Figura 1: Estrutura existente na comunicação entre dois neurônios



Fonte: biology.stackexchange.com/questions/22011/neurons-with-thousands-of-connections-where-are-the-extra-connections-coming-fr – adaptado. Os dendritos da célula emissora recebem diversos sinais de outros neurônios, geram um potencial de ação transmitido pelos axônios que atingem os botões terminais e influenciam os dendritos de outra célula nervosa.

As sinapses são pontos de comunicação pelos quais os neurônios emissores (pré-sinápticos) através de seus axônios transmitem seus sinais para um neurônio destinatário (pós-sináptico) (LOPES *et al.*, 1999). As sinapses podem ser divididas em: químicas ou elétricas. As sinapses elétricas apresentam como vantagem a velocidade na qual o sinal é repassado. Neste tipo, os impulsos elétricos passam diretamente da célula pré-sináptica para a pós-sináptica. A sinapse química, por sua vez, envolve a liberação de neurotransmissores (NT), substâncias que modulam e transportam sinais entre os neurônios (CHUDLER, 1996; THOMPSON, 2000). Vesículas sinápticas (VS) estão presentes no terminal pré-sináptico e são encarregadas de secretar os NTs para o espaço de comunicação entre um neurônio pré-sináptico e outro pós-sináptico chamado de fenda sináptica (FS), caracterizando o processo de sinapse (LENT, 2010; KREBS; WEINBEG; AKESSON, 2013). No quadro 1 é possível verificar os principais NTs e suas respectivas classes.

Quadro 1: Principais substâncias com propriedades neurotransmissoras ou neuromoduladoras

Catecolaminas	Adenosina
Dopamina (DA)	Adenosina trifosfato (ATP)
Norepinefrina (NE)	Neuropeptídeos
Epinefrina	Enkefalinas
Indolaminas	β -endorfinas
Serotonina (5-HT)	Dinorfina
Triptamina	Vasopressina
Melatonina	Ocitocina
Dimetil-triptamina	Substância P
Colinérgicos	Colecistocinina
Acetilcolina (ACh)	Neurotensina
Colina	Peptídeo Vasoativo Intestinal (PVI)
Aminoácidos e nucleotídeos	Somatostatina
Glutamato	Neuropeptídeo Y
Aspartato	Galanina
Glicina	Hormônios não-peptídicos
Histamina	Estrógenos
Ácido γ -aminobutírico (GABA)	Andrógenos
γ -hidroxibutirato (GHB)	Corticosteróides
Taurina	Hormônios da tireóide

Fonte: LOPES *et al.*, 1998 – adaptado.

Uma das propriedades mais importantes do sistema nervoso envolve a sua plasticidade. A plasticidade sináptica envolve mudanças na eficiência de transmissão sináptica provocadas por experiências relacionadas a atividades prazerosas, por exemplo, e que alteram o balanço de neurotransmissores presentes nos neurônios (RUGGIERO *et al.*, 2011). Seus efeitos envolvem alterações no processamento de

informações e na comunicação entre as regiões cerebrais. Desta forma, está intimamente relacionada ao processo de formação de memória, ao abuso de drogas e a estados afetivos (CITRI & MALENKA, 2008).

1.2 Dopamina

A dopamina consiste em um neurotransmissor formado por uma estrutura catecol com um grupamento amina ligado na cadeia etil da molécula (PUBCHEM, 2015). É pertencente à família das catecolaminas, a mesma que inclui outros neurotransmissores, tais como a norepinefrina e epinefrina (BRITANNICA, 2015). No cérebro possui importante papel dentro das funções motoras, motivacionais, de prazer e de felicidade. Estes efeitos são proporcionados a partir de sua ligação a receptores dopaminérgicos (SEEMAN, 2009).

Parte dos neurônios do cérebro (400 mil) é dito dopaminérgico, apresentando a produção deste neurotransmissor (SCHULTZ, 2007) e representando uma pequena fração do total de neurônios encontrados no cérebro. Apesar do número pequeno, os axônios destes neurônios possuem a capacidade de se projetarem para outras áreas do cérebro, exercendo e ampliando seu poder e influência (BJORKLUND & DUNNETT, 2007). As áreas dopaminérgicas do cérebro são identificadas como substância negra, área tegmental ventral, hipocampo, núcleo accumbens, corpo estriado e neocórtex (DAHLSTROEM & FUXE, 1964). São conhecidas quatro principais vias dopaminérgicas no sistema nervoso central (SNC), ilustradas na figura 2 (ZANATTA, 2014; AYANO, 2016):

1) **Via mesolímbica**: relacionada à emoção, recompensa, memória e ao desenvolvimento de sintomas positivos da esquizofrenia quando estimulada.

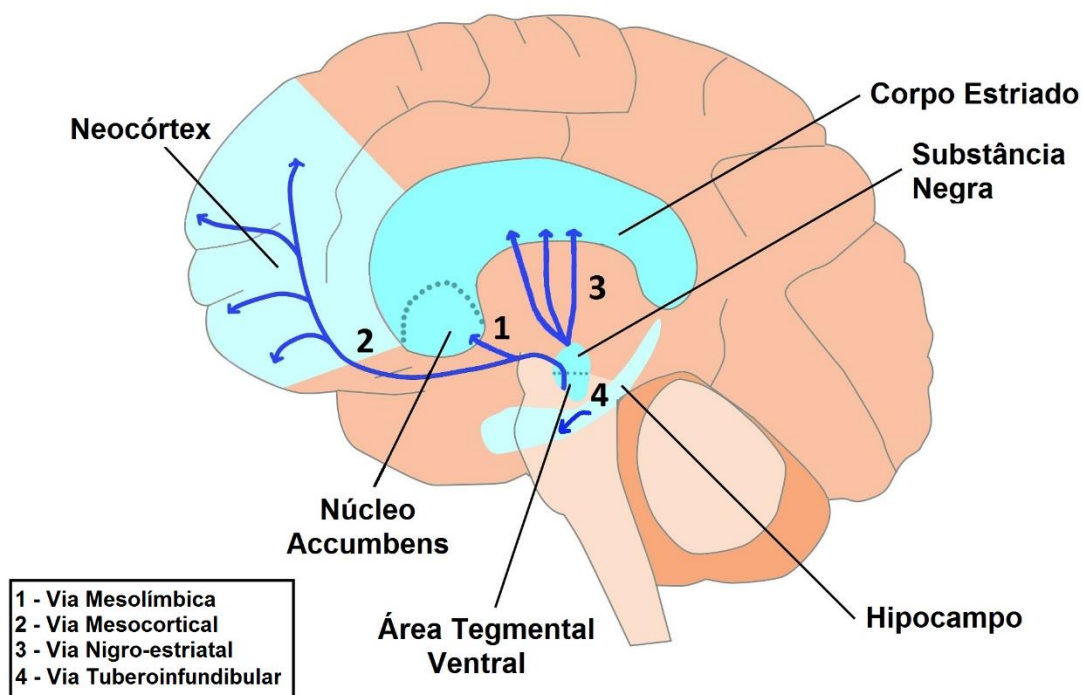
2) **Via mesocortical**: associada a funções cognitivas, memória, atenção, comportamentos emocionais e aprendizagem. Sintomas negativos e prejuízos cognitivos são observados em pacientes com esquizofrenia.

3) **Via nigro-estriatal**: referente à coordenação motora e ao movimento. Problemas nesta via estão relacionadas a sintomas da doença de Parkinson.

4) **Via tuberoinfundibular**: alusivo ao controle de prolactina, hormônio responsável pela estimulação de leite nas glândulas mamárias.

A dopamina funciona em parte como um "sinal de recompensa global", em que uma resposta inicial deste neurotransmissor a um estímulo gratificante codifica informações relacionadas ao contexto de recompensa.

Figura 2: Vias dopaminérgicas no sistema nervoso central



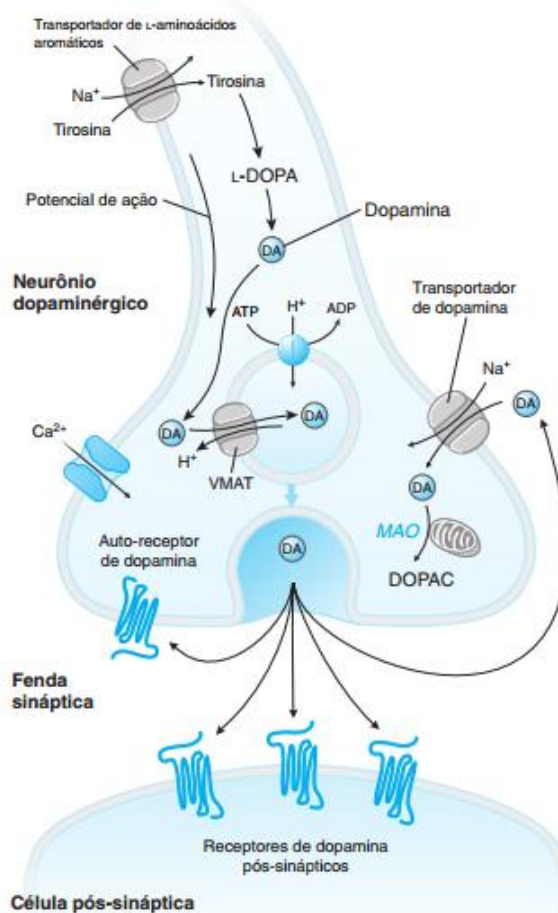
Fonte: oist.jp/news-center/photos/dopaminepathways – adaptado.

De acordo com Wolfram Schultz (1998; 2015), recompensas esperadas não produzem uma segunda resposta dopaminérgica em certas células, mas recompensas que são inesperadas ou maiores do que as esperadas produzem um aumento curto e duradouro da dopamina sináptica, ao passo que a omissão de uma recompensa esperada faz com que a liberação de dopamina caia abaixo do seu nível normal. A neurotransmissão de dopamina, entretanto, não está envolvida em todos os aspectos relacionados à cognição do prazer, uma vez que os centros de prazer foram identificados não apenas no sistema dopaminérgico, mas também em outros (como por exemplo o pallidum ventral) (ROBINSON & BERRIDGE, 1993; BERRIDGE & KRINGELBACH, 2015).

A síntese de dopamina é realizada a partir do aminoácido tirosina (figura 3). A tirosina é transformada primeiramente em L-DOPA para então ser convertida em dopamina. Após sua síntese, é transportada para o interior das vesículas secretoras, onde será armazenada e posteriormente liberada. É criado um gradiente eletroquímico por meio de uma ATPase que concentra prótons no interior da vesícula. Um antiportador de prótons chamado transportador de monoaminas vesicular (VMAT) realiza o deslocamento de prótons ao longo do gradiente (para fora da vesícula) e

simultaneamente contra o gradiente de concentração permite o transporte da dopamina para dentro da VS. A partir de estímulos nervosos, a vesícula secretora contendo a dopamina se liga à membrana plasmática e libera a dopamina para a fenda sináptica. Este processo é dependente do íon Ca^{2+} . Alterações na concentração deste íon podem inibir ou estimular a liberação deste neurotransmissor. Na fenda sináptica a dopamina pode exercer suas funções interagindo com receptores pós-sinápticos específicos. Pode também ser recaptada através da ligação com auto receptores nos neurônios pré-sinápticos ou a partir de um transportador (DAT) (GOLAN *et al.*, 2009; TORRES & AMARA, 2007; IVERSEN, 2009). A dopamina recaptada pode ser convertida em DOPAC, um metabolito formado a partir da enzima monoamina oxidase (MAO) que pode ser oxidado por peróxido de hidrogênio e formar compostos tóxicos que possuem a capacidade de destruir as vesículas secretoras. Este processo pode ser prevenido pelo uso de inibidores de MAO, como selegilina e rasagilina (EHRlich, 2013).

Figura 3: Síntese da dopamina a partir da tirosina



Fonte: GOLAN *et al.*, 2009.

Diversos medicamentos antipsicóticos reduzem os níveis de dopamina e tendem a causar anedonia, ou seja, a perda da capacidade de sentir prazer em toda a sua plenitude (WISE, 2008). Outros compostos afetam diretamente ou indiretamente a neurotransmissão da dopamina no núcleo accumbens, podendo levar ao vício quando são usados em doses elevadas repetidamente. Cocaína e metanfetamina, por exemplo, são psicoestimulantes que aumentam as concentrações sinápticas de dopamina (BERRIDGE; ROBINSON; ALDRIDGE, 2009).

1.3. Receptores dopaminérgicos

A dopamina exerce a regulação de suas vias de sinalização no sistema nervoso central a partir da ativação coordenada de seus receptores. Estes receptores compõem um sistema que permite a transmissão de uma variedade de sinais no organismo. O sinal que estimula o receptor vem de fora da célula, causando diversas alterações, tais como a ativação de enzimas e a abertura de canais iônicos, modificações estas que levarão ao surgimento de uma resposta fisiológica correspondente. (SPRANG, 1997; COLEMAN & SPRANG, 1996).

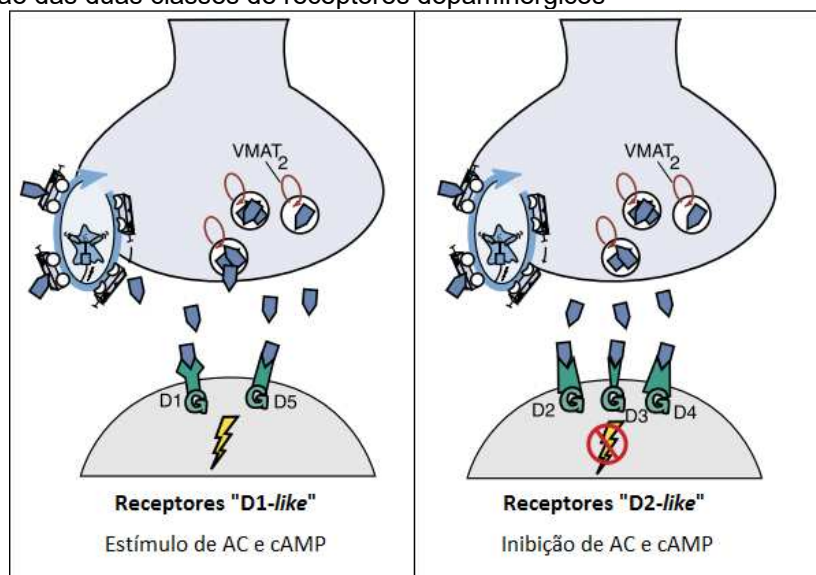
Existem cinco famílias de receptores dopaminérgicos (D1, D2, D3, D4 e D5), todos pertencentes à classe de receptores associados à proteína G (KEBADIAN & CALNE, 1979; JABER *et al.*, 1997). Estas famílias podem ser divididas em duas classes a partir de critérios envolvendo similaridade entre as estruturas e sensibilidade correlacionada a diversas drogas. D1 e D5 são associados à classe “D1-like” enquanto que os receptores D2, D3 e D4 são relacionados à classe “D2-like” (ROMANELLI; WILLIAMS; NEVE, 2009).

A classe “D1-like” encontra-se acoplada à subunidade alfa da proteína G de estímulo (Gs), ativando a adenilato ciclase e aumentando o nível de AMPc (monofosfato cíclico de adenosina) intracelular. Já a classe “D2-like” acopla-se a subunidade alfa inibitória da proteína G (Gi), exercendo efeito inibitório sobre a adenilato ciclase e, por consequência, diminuindo os níveis de AMPc intracelular (MISSALE *et al.*, 1998). O modo de ação das diferentes classes de receptores dopaminérgicos está ilustrado na figura 4. Já a figura 5 demonstra a localização de cada tipo de receptor no cérebro humano.

Os receptores de dopamina são expressos majoritariamente nos neurônios pós-sinápticos da região sináptica. Auto receptores, cuja maior parte pertence à classe

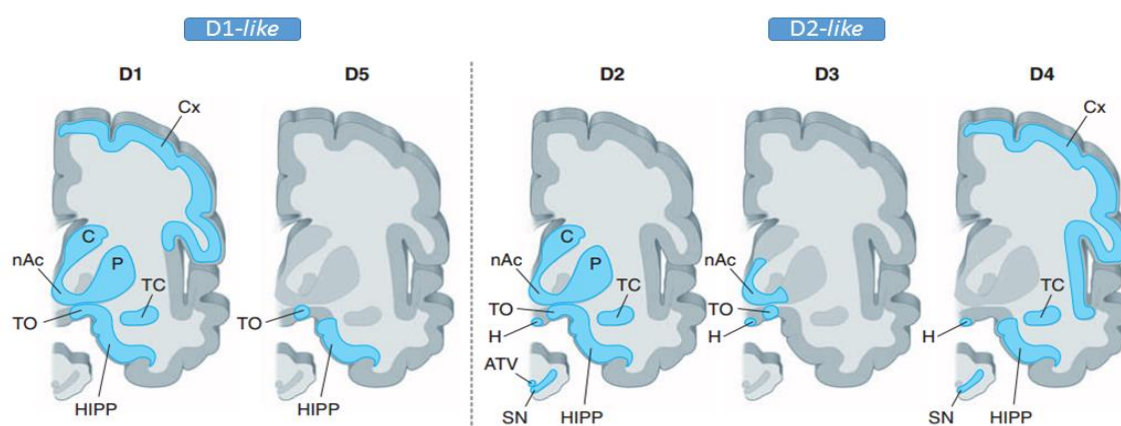
“D2-like”, encontram-se nos neurônios pré-sinápticos, percebem o fluxo exacerbado de dopamina nas fendas sinápticas e realizam uma redução no tônus dopaminérgico, regulando desta forma a concentração deste neurotransmissor (GOLAN *et al.*, 2009).

Figura 4: Atuação das duas classes de receptores dopaminérgicos



Fonte: STAHL, 2017 – adaptado. Os receptores “D1-like” atuam estimulando a síntese da enzima Adenil ciclase e a produção de AMP cíclico. Já os receptores “D2-like” realizam a ação inversa, inibindo a síntese da Adenil ciclase e de AMP cíclico.

Figura 5: A localização (azul) a partir de um corte coronal das cinco subclasses de receptores de dopamina no cérebro humano



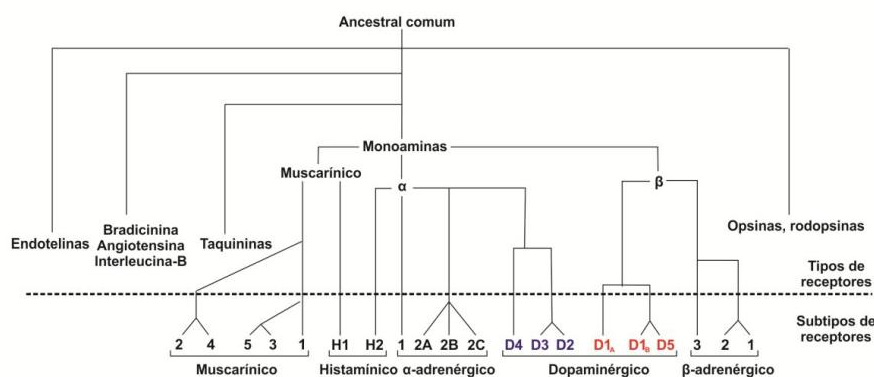
Fonte: GOLAN *et al.*, 2009 – adaptado. Abreviações: ATV = área tegmental ventral, C = núcleo caudado, Cx = córtex cerebral, H = hipotálamo, HIPP = hipocampo, nAc = núcleo accumbens, P = putâmen, SN = substância negra, TC = tonsila do cerebelo, TO = tubérculo olfatório.

A ação da dopamina em um neurônio alvo depende de quais tipos de receptores estão presentes em sua membrana e nas suas respostas internas ao segundo mensageiro AMPc (ROMANELLI; WILLIAMS; NEVE, 2009). Cada tipo de

receptor é codificado por um gene único. O gene DRD1 (cromossomo 5) codifica o receptor D1, DRD2 (cromossomo 11 - receptor D2), DRD3 (cromossomo 5 - receptor D3), DRD4 (cromossomo 11 - receptor D4) e DRD5 (cromossomo 4 - receptor D5) (MISSALE *et al.*, 1998). Todos os receptores possuem segmentos conservados formados por sete hélices transmembranares conectadas por três alças extracelulares e três intracelulares. (OSTROWSKI *et al.*, 1992; SIBLEY & MONSMA, 1992). A conservação encontrada nos receptores é consequência da ancestralidade comum compartilhada entre eles, como pode ser vista na figura 6.

Os receptores “D2-like” podem apresentar variações quanto à sua estrutura. O receptor D2 possui uma forma alongada (D2L) e uma forma curta (D2S). A forma alongada possui cerca de 29 aminoácidos a mais que a forma curta na terceira alça citoplasmática (GIROS *et al.*, 1989.). Ambas as formas apresentam concentrações diferentes em neurônios pré-sinápticos e pós-sinápticos. Enquanto que o D2S é considerado um auto receptor, concentrando-se mais em neurônios pré-sinápticos, o D2L é característico de neurônios pós-sinápticos (MOYER *et al.*, 2011). O receptor D3 apresenta inúmeras formas devido também a *splicing* alternativo; entretanto, muitas não são funcionais. Da mesma forma o receptor D4 possui inúmeras variantes decorrentes de modificações na terceira alça intracelular. (VAN TOL *et al.*, 1991; VAN TOL *et al.*, 1992). Os receptores D1 são os mais numerosos no sistema nervoso humano, sendo seguidos pelos receptores D2. Os receptores D3, D4 e D5 estão presentes em níveis significativamente mais baixos (ROMANELLI; WILLIAMS; NEVE, 2009).

Figura 6: Árvore evolutiva dos receptores acoplados a proteína G



Fonte: GRAHAM, 2009 – adaptado. Os receptores dopaminérgicos encontram-se destacados em azul e vermelho.

1.3.1 Os receptores D2 e D3

Conforme estabelecido na literatura, o receptor D2 regula o humor, a estabilidade emocional no sistema límbico e o controle do movimento nos gânglios basais (SADOCK; SADOCK; RUIZ, 2009; STAHL, 2008). Devido à sua distribuição em pontos importantes de regulação das vias dopaminérgicas no cérebro humano, muitos estudos envolvendo antipsicóticos o tiveram como objeto central. O uso de antipsicóticos que agiam no D2 alcançaram certo sucesso em tratamentos relacionados a transtornos psicóticos. Porém, o surgimento de diversos efeitos extrapiramidais se mostrou um grande gargalo para os pacientes (TUPPURAINEN *et al.*, 2010; GLAZER, 2000).

Os sintomas extrapiramidais, também denominados EPS, incluem efeitos motores associados ao uso de diversos antipsicóticos. Alguns exemplos destes sintomas são discinesia tardia (movimentos involuntários), acatisia (síndrome que se manifesta pela impossibilidade de estar parado e caracterizada pela inquietação e agitação) e distonia aguda (contrações musculares indesejadas) (INADA; YAGI; MIURA, 2002; KANE, 2001; MESZAROS *et al.*, 1997; SCHILLEVOORT *et al.*, 2001).

De todos os receptores de dopamina de origem humana, o único que possui sua estrutura depositada em banco de dados (como o *Protein Data Bank*) é o receptor D3. A estrutura (PDB: 3PBL) contém o receptor acoplado ao seu antagonista eticloprida. A estrutura foi solucionada por meio da técnica de difração de raios X, com resolução final de 2.89 Å e representou um avanço nas possibilidades de entender o funcionamento destes receptores. (CHIEN *et al.*, 2010). As sete hélices transmembranares encontradas no receptor D3 se assemelham em muito com as estruturas das proteínas G previamente resolvidas. As sutilezas nas orientações dessas hélices, bem como as diferenças nas porções intracelulares e extracelulares do receptor, conferem ao D3 propriedades bioquímicas e farmacológicas exclusivas. (CHEREZOV *et al.*, 2007; HANSON *et al.*, 2008; JAAKOLA *et al.*, 2008; WARNE *et al.*, 2008).

O receptor D3 é encontrado em porções também importantes das vias dopaminérgicas, embora presente em proporções bem menores do que aquelas em que o receptor D2 está situado. Atualmente, o D3 é alvo para o tratamento da doença de Parkinson, depressão, esquizofrenia e outras doenças neurológicas (JOYCE, 2001; PRASAD *et al.*, 2002; SHIMOHAMA *et al.*, 2003; VOLKOW; FOWLER; WANG,

2002). É considerado um alvo potencial no desenvolvimento de fármacos devido aos seus menores efeitos colaterais e maior grau de neuroproteção. Vários estudos forneceram evidências de que ligantes seletivos ao D3 podem ter potencial terapêutico para o tratamento do abuso de drogas (PILLA *et al.*, 1999; NEWMAN; GRUNDT; NADER, 2005; CHEN; LEVANT; WANG, 2012). Através de pesquisas na área da química medicinal, antagonistas preferenciais do D3 e agonistas parciais (por exemplo, SB 277011A, NGB 2904, BP 897) foram desenvolvidos e demonstraram atenuar os comportamentos de busca de drogas em modelos de animais, com menos efeitos motores associados, reforçando o bloqueio de D3 como alvo para descoberta terapêutica (GILBERT *et al.*, 2013; SPILLER *et al.*, 2008; VOREL *et al.*, 2002; XI *et al.*, 2006), particularmente para o abuso de substâncias (HEIDBREDE & NEWMAN, 2010). No quadro 2 é possível verificar as funções relacionadas aos receptores D2 e D3.

Quadro 2: Receptores D2 e D3 com suas funções listadas dentro do Sistema Nervoso Central

Receptor	Função
D2	Memória de trabalho, recompensa, motivação, motilidade gastrointestinal, vasodilatação, regulação de receptores pré-sinápticos inibidores de locomoção e receptores pós-sinápticos ativadores de locomoção.
D3	Envolvido nas funções cognitivas endócrinas, emoções, regulação das funções locomotoras e modulação das funções endócrinas.

Fonte: AYANO, 2016 - adaptado.

Os receptores D2 e D3 possuem aproximadamente 50% de identidade em toda a sequência de aminoácidos e esta porcentagem aumenta para 78% nos domínios transmembranares helicoidais (PARK *et al.*, 1995; MISSALE *et al.*, 1998; ZANATTA *et al.*, 2014; SOKOLOFF *et al.*, 1990; CHIEN *et al.*, 2010), que também abrangem os seus sítios ativos.

A interação não seletiva com D2 foi sugerida como o mecanismo para elicitar os efeitos colaterais indesejados nas aplicações terapêuticas de ligantes que também apresentam certa seletividade para o D3. O desenvolvimento de ligantes com alta afinidade e seletividade, ou a manipulação seletiva de suas vias de sinalização

podem ser estratégias apropriadas para separar as ações terapêuticas desejadas dos efeitos nocivos indesejados. (HOMES; LACHOWICZ; SIBLEY, 2004)

Diante disto, é de suma importância o estudo de ligantes altamente seletivos ao D2 ou D3, de forma que efeitos colaterais provocados por efeitos extrapiramidais indesejados sejam totalmente minimizados. Neste contexto, a disponibilidade da estrutura do receptor D3 permite que análises envolvendo a biologia computacional sejam realizadas, por meio de cálculos quânticos e modelagem computacional. A proposição de ligantes específicos a cada tipo de receptor se torna mais viável, abrindo um leque de possibilidades para o tratamento de ordens neuropsiquiátricas.

1.4 Biologia computacional

A biologia computacional está relacionada a aplicação de diferentes técnicas que possuem como objetivo principal avaliar e interpretar sistemas biológicos complexos por meio de programas que realizam cálculos baseados nas equações de física clássica e quântica. Uma importante aplicação da biologia computacional está relacionada ao estudo da interação entre proteínas e ligantes. Torna-se possível identificar os sítios de atuação de determinado ligante na proteína, assim como quantificar sua energia de ligação e suas conformações e orientações mais favoráveis visando algum interesse farmacológico (VERLI & BARREIRO, 2005). Para executar estas análises, são utilizadas estruturas tridimensionais obtidas por técnicas de difração de raios-X, RMN ou então por modelagem molecular (BLUNDELL *et al.*, 2006; RAHA, 2007., MATTA, 2010; ZHOU, 2010; HENNIG & SATTLER, 2014; JASKOLSKI *et al.*, 2014).

Os métodos aplicados em análises computacionais podem ser divididos em clássicos, semi-empíricos e quânticos. Os métodos clássicos (ou de mecânica molecular) estão relacionados a simulações onde os cálculos utilizam expressões algébricas simplificadas para descrever os sistemas biológicos. Estas expressões algébricas descrevem o sistema em termos da energia associada ao alongamento, flexão e rotação de ligações, além das interações intermoleculares envolvidas, como as forças de van der Waals e ligações de hidrogênio. Campos de forças com parâmetros predefinidos por dados experimentais ou *ab initio* são utilizados. Nos métodos semi-empíricos algumas informações para descrever o sistema são omitidas

ou aproximadas, porém parametrizações são realizadas a fim de dar ao método maior acurácia possível. Desta forma, ele possui maior rapidez na execução dos cálculos que as abordagens quânticas e possuem maior acurácia que as metodologias clássicas. Por meio de métodos quânticos, também chamados de *ab initio*, estruturas moleculares podem ser calculadas a partir de princípios teóricos da equação Schrödinger, de constantes fundamentais e números atômicos presentes na estrutura. Aproximações são utilizadas para facilitar o cálculo das equações diferenciais de Schrödinger (ZANATTA *et al.*, 2014).

1.4.1 Métodos Clássicos

1.4.1.1 Atracamento Molecular

O atracamento (ou *docking*) molecular tem se tornado cada vez mais importante para o desenho racional de fármacos, para elucidar diversos processos bioquímicos, assim como para obter maior conhecimento do modo de interação entre moléculas e macromoléculas (KITCHEN *et al.*, 2004; LENGAUER & RAREY, 1996). A partir de algoritmos, o atracamento molecular se mostra útil para predizer o possível sítio de interação de determinado ligante em uma macromolécula. Esta metodologia pode ser dividida em duas partes: investigação da conformação e orientação de dado ligante no sítio (levando em consideração as interações eletrostáticas, de van der Waals e a complementaridade de superfícies) e a predição da afinidade de determinado ligante a uma proteína por meio de sua energia livre de ligação. Esta predição gerada é denominada *scoring*. O *scoring* basicamente traduz em termos de pontuação a probabilidade de determinada pose (candidato escolhido durante o processo de atracamento) representar um modelo com energia de ligação favorável. A acurácia do atracamento leva em consideração a capacidade da pose de representar determinado modelo visualizado experimentalmente (BALLANTE & MARSHALL, 2016; BURSULAYA *et al.*, 2003). Na literatura é possível verificar diversos trabalhos envolvendo diretamente a aplicação desta técnica. Bhargava e colaboradores (2014) estudaram o docking de derivados do antipsicótico risperidona no receptor D2. Zanatta e colaboradores (2016) aplicaram *docking* molecular tanto da risperidona como também do antipsicótico haloperidol no receptor D3. Feng; Hou; Li, (2012) mostraram a utilidade do docking molecular para traçar perfis de ligantes no

receptor D3. Existem diversos programas de atracamento molecular, diferenciando-se cada um pelos algoritmos utilizados e também pelo cálculo da afinidade da interação (VERLI, 2014).

1.4.1.2 Dinâmica molecular

O procedimento realizado no *docking* é útil e eficaz para predizer o sítio de interação entre um ligante e uma macromolécula. Todavia, no meio biológico tanto a proteína como o ligante são estruturas flexíveis que se adaptam um ao outro durante o reconhecimento molecular, indicando assim a existência de um encaixe induzido entre ambos. Este reconhecimento molecular leva em consideração a complementaridade físico-química e estrutural existente entre o ligante e a proteína. Para uma melhor acurácia relacionada à conformação e orientação do ligante neste sítio, é necessária a realização de uma dinâmica molecular. Esta metodologia envolve uma simulação que consiste na computação dos movimentos dos átomos em uma molécula ou de átomos individuais ou moléculas em sólidos, líquidos e gases, de acordo com a segunda lei de Newton. Os fatores físicos em avaliação durante este processo envolvem a aceleração, a velocidade e a posição dos átomos ao longo de determinado tempo. Para realizar este tipo de análise, a dinâmica molecular emprega diversos parâmetros e funções que possuem como função descrever o comportamento de átomos e ligações em um dado meio. Estes parâmetros e funções são denominados campo de força. Cada campo de força possui um conjunto próprio de equações matemáticas dedicadas a reproduzir diversos comportamentos de átomos em um dado meio. Desta forma, a dinâmica molecular é capaz de avaliar a evolução no movimento de diversos átomos ao longo do tempo e em determinado meio (VERLI, 2014).

Na literatura é possível verificar inúmeros trabalhos compreendendo esta técnica. Platania e colaboradores (2017) aplicaram dinâmica molecular no estudo de comparação estrutural entre os receptores D2 e D3 obtidos por modelagem molecular. Kling e colaboradores (2014) estudaram via dinâmica a estabilização do receptor D2 complexado com o antipsicótico aripiprazole. Fu e colaboradores (2007) estudaram por meio da dinâmica a estabilização dos receptores D1 e D2 complexados com stepholidina, composto natural com conhecida atividade farmacológica. Diversos programas são utilizados para preparar e realizar uma dinâmica molecular.

1.4.2 Métodos Quânticos

1.4.2.1 MFCC + DFT

Atualmente, métodos de simulação quântica são frequentemente utilizados para descrever estruturas biológicas com centenas ou mesmo milhares de átomos devido à necessidade de acurácia para estimar as energias de ligação envolvidas (ZHOU; HUANG; CAFLISCH, 2010). Apesar da complexidade dos sistemas biológicos, a capacidade computacional crescente combinada com os avanços dos métodos quânticos tem permitido a aplicação da mecânica quântica no estudo de problemas biológicos, como reações enzimáticas e interações proteicas (HAFNER, 2010), assim como no desenvolvimento *in silico* de fármacos (RAHA, 2007; BOHÓRQUEZ *et al.*, 2010).

A teoria do funcional da densidade (DFT) é amplamente utilizada como base para os cálculos quânticos envolvendo sistemas biológicos (ORIO; PANTAZIS; NEESE, 2009; CHO *et al.*, 2014; OFTADEH; MAHANI; HAMADANIAN, 2013). Com esta teoria as propriedades de um complexo são determinadas a partir de funcionais da densidade eletrônica. O uso de funcionais, como GGA e parametrizações, como PBE (PERDEW *et al.*, 1996) e DNP+ (Double Numeric Polarization +) proporcionam aos cálculos uma boa descrição das interações sem elevar diretamente os custos computacionais do processo. A técnica possui limitações ao passo que subvaloriza a descrição de interações fracas (como de van der Waals) e supervaloriza interações eletrostáticas. Para isto, métodos de correção (como o de dispersão - TS) são utilizados com o objetivo de suprir esta deficiência (TKATCHENKO & SCHEFFLER, 2009). Os cálculos utilizam o modelo de solvatação *Conductor-like Screening Model* (COSMO). Este algoritmo inclui constantes dielétricas ao cálculo e são importantes para melhor simular o ambiente químico existente na proteína. O DFT é considerado uma ferramenta de pesquisa valiosa, podendo analisar propriedades geométricas, eletrônicas e espectroscópicas dos sistemas em estudo e servir para validar as conclusões que foram alcançadas a partir das análises experimentais ou para a descoberta de novos dados. (ORIO; PANTAZIS; NEESE, 2009).

O MFCC (Fracionamento Molecular com Capas Conjugadas) envolve o recorte da proteína em fragmentos individuais baseados em aminoácidos que são tratados com suas respectivas capas moleculares. As capas moleculares podem

incluir o resíduo posterior e anterior ao aminoácido de interesse, assim como possíveis moléculas de água que estão próximas a ele (ANTONY & GRIMME, 2012). As interações extras entre a proteína e as capas introduzidas são canceladas por subtração da interação entre a macromolécula e as moléculas artificiais formadas contendo as capas conjugadas. Ao final da conta algébrica, é obtido a energia de ligação específica entre o aminoácido de interesse e determinado ligante. Esta metodologia possui uma grande vantagem uma vez que as energias de interação da proteína a partir de seus fragmentos individuais podem ser calculadas de forma independente, sendo adequado para a execução através do uso de *clusters* de computadores que podem acelerar drasticamente a velocidade em que o cálculo é executado (ZHANG & ZHANG, 2003).

A metodologia MFCC+DFT pode ter um impacto poderoso na predição das energias envolvendo interações proteína-ligante e, desta forma, servir como base para a concepção de novas drogas e novos agentes terapêuticos eficientes. Ourique e colaboradores (2016) aplicaram cálculos quânticos na investigação de possíveis novos compostos inibitórios ao vírus da dengue. Já Sousa e colaboradores (2016) a partir destes cálculos mostraram como ocorria a interação entre dois complexos proteicos envolvidos no equilíbrio de modelação óssea do corpo humano. Zanatta e colaboradores (2012) demonstraram por meio de MFCC-DFT como ocorre a interação do antipsicótico eticloprida com o receptor D3.

2. OBJETIVOS

Por meio de métodos *in silico*, caracterizar as bases moleculares de interação entre a dopamina e os receptores dopaminérgicos D2 (D2L) e D3.

2.1 Objetivos específicos

- A partir do receptor D3 obter por meio de modelagem comparativa a estrutura do receptor D2;
- Realizar cálculos de *docking* molecular entre a dopamina e os receptores dopaminérgicos D2/D3;
- Realizar dinâmica molecular das estruturas provenientes do *docking* entre a dopamina e os receptores dopaminérgicos D2/D3;
- Identificar por meio de cálculos quânticos os resíduos de aminoácidos mais importantes na interação dos receptores D2/D3 com a dopamina;
- Identificar quais regiões da dopamina possuem maior contribuição e importância na interação desta com os receptores D2/D3;
- Avaliar o perfil energético de ligação a partir de um raio crescente centrado na dopamina.

3. METODOLOGIA

3.1 Obtenção das estruturas tridimensionais

A estrutura do receptor D3 foi obtida a partir do banco de dados *Protein Data Bank* (PDB: 3PBL). Este receptor foi utilizado como modelo em estudos prévios do grupo do Laboratório de Ciência e Tecnologia de Biomateriais (LCTB-UFC) para a obtenção, por meio de modelagem comparativa, do receptor D2.

Para a modelagem do D2 a sequência primária deste receptor foi obtida por meio do banco de dados *Uniprot* e alinhada com a sequência do receptor D3 disponível no *Protein Data Bank* (PDB: 3PBL) a fim de determinar os fragmentos de sequências idênticas. As porções não idênticas foram analisadas e, por meio do algoritmo BLAST, foi realizada uma busca por estruturas com boas resoluções que pudessem ser utilizadas para construir a base da modelagem. Os fragmentos de sequências não idênticas foram submetidos nas plataformas online de modelagem *iTasser* (ZHANG, 2008) e *QUARK* (ZHANG, 2012), onde o melhor resultado foi utilizado como entrada juntamente com modelo tridimensional do receptor D3. A modelagem do receptor D2 foi então realizada utilizando o programa *Modeller* versão 9.16 (WEBB & SALI, 2014), sendo o modelo obtido analisado na plataforma online *MolProbity* (CHEN *et al.*, 2010) e submetido à refinamento na plataforma *ModRefiner* (XU & ZHANG, 2011).

3.2 Otimização das estruturas dos receptores

As estruturas tridimensionais foram submetidas a duas otimizações: adição de hidrogênios e análise do pKa de grupos ionizáveis. As estruturas foram completadas com os hidrogênios ausentes e estes foram submetidos a uma convergência de energia, ajustando assim sua conformação para um estado de energia mais favorável a partir do programa *Discovery Studio* versão 3.1 (*Accelrys Software Inc., San Diego*) e a utilização do campo de força CHARMM27.

O servidor PDB2PQR (DOLINSKY *et al.*, 2004), com o auxílio do algoritmo do programa PROPKA 3.1, foi utilizado para prever os valores de pKa dos grupos ionizáveis dos aminoácidos dos receptores dentro do pH fisiológico (7.2). Desta forma

foi possível determinar que aminoácidos, nestas condições de pH, se encontrariam protonados ou desprotonados.

3.3 Obtenção e otimização da dopamina

A dopamina foi obtida a partir do banco de dados *Pubchem*. O programa *Marvin Sketch* (*ChemAxon*) foi utilizado para determinar as micro espécies existentes a partir de uma variação de pH (BRINK & EXNER, 2010). Aquela mais abundante dentro do pH fisiológico foi escolhida para o estudo. O programa *Materials Studios* versão 7.0 (*Accelrys Software Inc., San Diego*) foi utilizado para realizar a convergência de energia e ajustar o ligante à sua conformação molecular mais favorável.

3.4 Docking Molecular da dopamina nos receptores

Os cálculos de *docking* molecular foram realizados com o auxílio do programa *AutoDock Vina*, versão 1.1.2 (TROTT & OLSON, 2010). Foram realizados *dockings* da dopamina nos dois tipos de receptores dopaminérgicos obtidos previamente, D2 e D3. O preparo das estruturas utilizadas seguiu metodologias descritas por Maranhão *et al.*, (2017), utilizando a interface gráfica do programa *AutoDockTools* (*The Scripps Research Institute*), versão 1.5.6, que permitiu a remoção de hidrogênios não polares e a adição de cargas parciais (*Gasteiger charges*). Durante a simulação, os receptores foram tratados de forma rígida, enquanto que a dopamina de forma flexível, permitindo ajustes conformacionais do ligante nos possíveis sítios de ligação dos receptores. As configurações do cálculo de *docking* incluíram a utilização de uma caixa de 25, 25, 25 e exaustividade de 15. Foram geradas 10 poses para cada cálculo. Os melhores resultados (poses) foram selecionados a partir da coordenação de interações chave do ligante nos receptores tendo como base a eticloprida co-cristalizada com o D3.

3.5 Dinâmica Molecular dos complexos D2/D3 - dopamina

Simulações de dinâmica molecular foram realizadas para a análise da acomodação das dopaminas em seus respectivos sítios de ligação na superfície dos

receptores D2 e D3. Para isto foram utilizados os melhores resultados obtidos nos cálculos de *docking*. As configurações da dinâmica foram preparadas a partir do programa VMD (*Visual Molecular Dynamics*) versão 1.9.2 (HUMPHREY; DALKE; SCHULTEN, 1996). A preparação foi baseada no trabalho de Maranhão *et al.*, (2017), envolvendo a solvatação do sistema em uma caixa de água (modelo TIP3) com margem de 30 Å em cada dimensão, seguida pelo balanceamento e neutralização de cargas a partir de adição de íons de Na^+ e Cl^- . Foi aplicada uma rampa de temperatura de 100 a 300 K por 20 mil passos. A dinâmica foi processada sob condições NPT (*constant normal pressure and normal temperature*) a 300 K. Resíduos pertencentes ao sítio de ligação em que a dopamina ocupou no *docking* foram deixados flexíveis durante a dinâmica, ao contrário do restante da proteína, que se encontrou rígida a partir da aplicação de restrições. As simulações de dinâmica foram executadas com o auxílio do programa NAMD (*Nanoscale Molecular Dynamics*), versão 2.9, utilizando o campo de força CHARMM27 (MACKERELL *et al.*, 1998; PHILLIPS *et al.*, 2005). A dinâmica ainda contou com o processo de convergência de energia, realizado em dois momentos distintos: inicialmente em mil passos e ao fim do processamento da dinâmica em dez mil passos. O processamento da dinâmica teve duração variável, sendo finalizada após a estabilização (acomodação) da dopamina em seus sítios de interação através da análise de RMSD.

3.5.1 Análise de RMSD

O RMSD (*Root Mean Square Deviation*) demonstra a variação atômica dos átomos ao longo do tempo de simulação. Este é considerado o principal critério para avaliar a estabilidade de um ligante ao final da dinâmica (SHEN *et al.*, 2013. EKHTEIARI *et al.*, 2017). O RMSD foi obtido a partir do programa VMD (*Visual Media Dynamics*). Neste trabalho, o objetivo da dinâmica foi obter a acomodação do ligante no seu sítio através dos ajustes conformacionais do mesmo e de resíduos de aminoácidos possivelmente relevantes para ligação ao longo do tempo. Os gráficos a serem mostrados aqui representam os valores referentes à molécula de dopamina. Estruturas com variações menores que 2 Å foram consideradas estáveis e a dinâmica pôde ser concluída.

3.6 Análise das interações a nível quântico

A contribuição energética de todas as interações envolvidas na formação dos complexos entre D2/D3 e a dopamina foi determinada por meio de cálculos de mecânica quântica. Visando estes resultados, foi utilizado o método MFCC (Fracionamento Molecular com Capas Conjugadas) (ZHANG & ZHANG, 2003; MEY; ZHANG; ZHANG, 2005). As capas conjugadas escolhidas para um dado resíduo que teve sua interação avaliada com a dopamina foram os seus aminoácidos anteriores e posteriores na sequência da proteína, além de eventuais moléculas de água que estiveram localizadas próximo ao resíduo de interesse, seguindo metodologias previamente executadas. (MOTA *et al.*, 2016; SOUSA *et al.*, 2016).

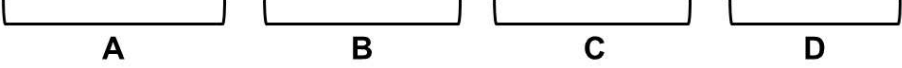
Para identificar os resíduos componentes da interface no complexo proteína-ligante foram traçados raios imaginários no intervalo de 2,5 a 10 Å a partir da dopamina, variando 0,5 Å em cada medida. Cada novo resíduo identificado com pelo menos um átomo na esfera imaginária criada foi identificado em seus respectivos raios. Todos os cálculos de energia de interação foram realizados utilizando o modelo de solvatação COSMO. A escolha do valor de constante dielétrica foi baseada no trabalho de Vicatos e colaboradores (2009), que identificaram em um estudo diversificado envolvendo 45 proteínas que os melhores valores de constante dielétrica (ϵ) para interações envolvendo cargas estariam situadas na faixa de 1 e 40. A constante dielétrica homogênea de 20 desta forma foi adotada como padrão neste trabalho. O método DFT, implementado no código DMOL3 (DELLEY, 1990; DELLEY, 2000) da suíte 14 do *Materials Studios* versão 7.0 (Accelrys Software Inc., San Diego) foi utilizado para a descrição das interações. As configurações utilizadas para o cálculo quântico incluíram o uso da funcional de aproximação do gradiente generalizado (GGA) com parametrização PBE (PERDEW *et al.*, 1996), um conjunto de bases para descrever orbitais (DNP+: *Double Numeric Polarization +*) e um método de correção (TS). Estas configurações são adequadas para a descrição de sistemas em que haja ligações de hidrogênio e forças de van der Waals. Estes mesmos indicadores e parâmetros foram utilizados para calcular, por meio de uma superfície eletrostática, a densidade eletrônica da molécula da dopamina.

A descrição das interações foi obtida a partir do cálculo algébrico envolvendo o resíduo de interesse (R_i) da proteína, suas capas moleculares (R_{i-1}/R_{i+1}) e a dopamina (Li), como bem descrito em trabalhos anteriores (ZANATTA *et al.*, 2012;

DANTAS *et al.*, 2015) e apresentado na figura 7. Para cada resíduo foram gerados quatro sistemas: A, B, C e D. O sistema A englobou o ligante, o resíduo de interesse e suas capas moleculares. O sistema B foi formado apenas pelo resíduo de interesse com suas capas moleculares. O sistema C incluiu o ligante e as capas moleculares do resíduo de interesse. Por último, o sistema D apenas englobou as capas moleculares do resíduo de interesse. A partir de uma conta algébrica ($A - B - C + D$) foi possível a obtenção da energia entre os resíduos de interesse da proteína e o ligante, levando em consideração a influência das capas moleculares na interação.

Figura 7: Metodologia algébrica adotada para a obtenção da energia de ligação entre determinado resíduo e ligante

$$Elri = E(LiR_{i-1}RiR_{i+1}) - E(R_{i-1}RiR_{i+1}) - E(LiR_{i-1}R_{i+1}) + E(R_{i-1}R_{i+1})$$



A **B** **C** **D**

Elri = energia entre ligante e resíduo de interesse
Li = ligante (dopamina)
R_{i-1} = capa molecular (resíduo anterior)
R_i = resíduo de interesse
R_{i+1} = capa molecular (resíduo posterior)

Fonte: Elaborado pelo autor.

3.6.1 O painel BIRD

O painel BIRD (*Binding site, Interaction energy and Residues Domain*) pode ser obtido a partir da análise quântica das interações envolvidas entre proteínas e ligantes. Neste trabalho o BIRD foi usado para apresentar os resíduos importantes na interação entre os receptores D2/D3 e a dopamina.

O BIRD detalha as energias de ligação (em kcal/mol) empregando barras horizontais nas quais é possível avaliar a importância de cada interação, seja ela atrativa (negativa) ou repulsiva (positiva). Também é possível visualizar no lado direito o raio de interface no qual cada interação está situada. O painel mostra próximo da barra horizontal uma descrição da interação, pontuando as regiões e os átomos do ligante envolvidos na ligação. As águas provenientes das dinâmicas que estiveram localizadas mais perto de cada resíduo de interesse também foram representadas neste painel. (SOUSA *et al.*, 2016).

3.6.2 Avaliação da energia total

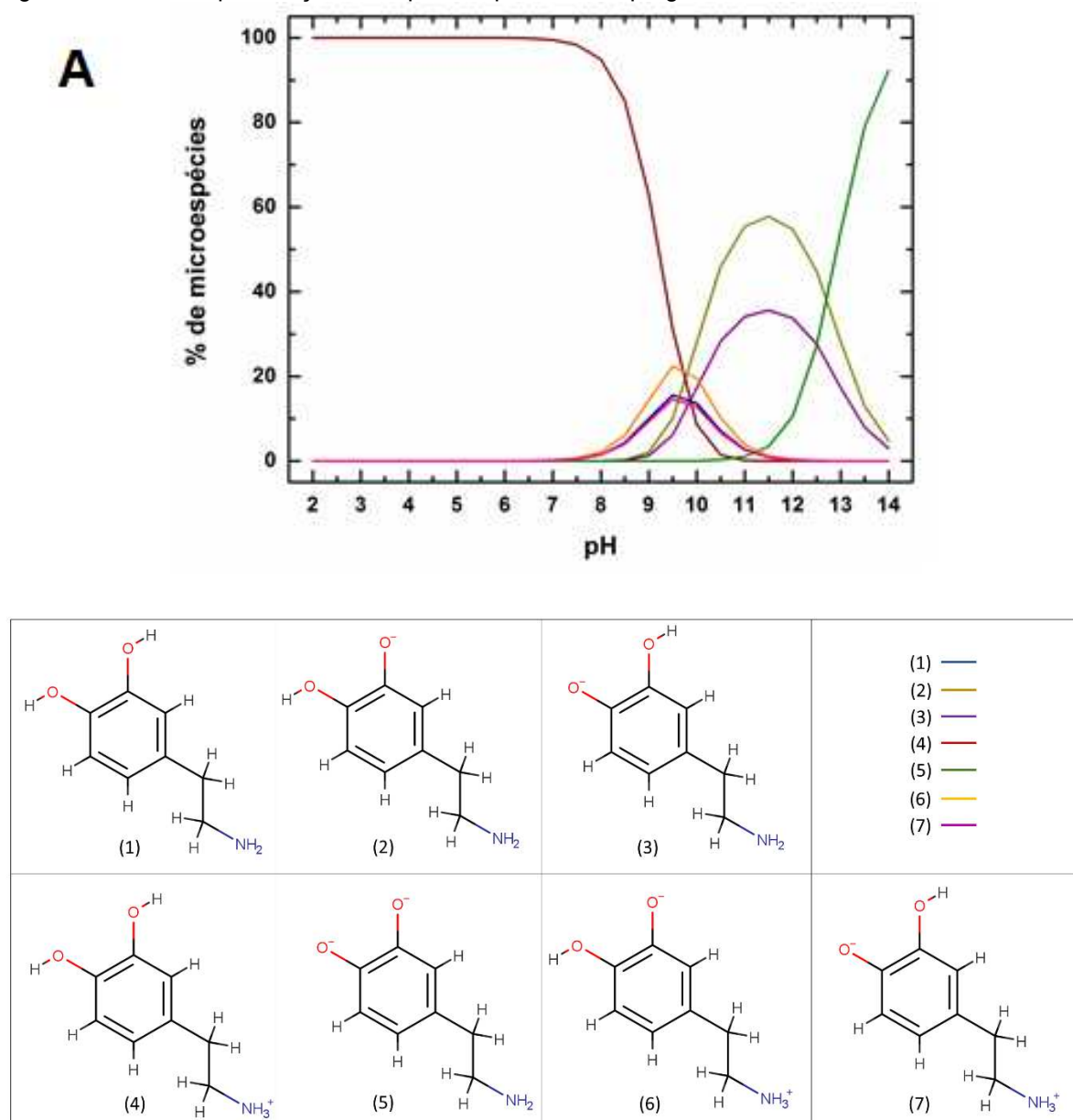
É possível obter a partir dos resultados dos cálculos quânticos a energia total envolvida na interação entre ligante e proteína. A avaliação da energia total envolve o somatório das contribuições individuais de cada intervalo traçado anteriormente entre o ligante e a proteína. Neste trabalho foi obtida a energia total de interação dentro de uma faixa de raio de 2,5-10 Å entre os receptores D2/D3 e a dopamina.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análise estrutural da dopamina

A análise de protonação da dopamina foi útil para prever a existência de diferentes micro espécies desta molécula ao longo de uma variação de pH. Tais compostos e suas distribuições podem ser visualizadas na figura 8.

Figura 8: Estudo de protonação da dopamina por meio do programa *Marvin Sketch*

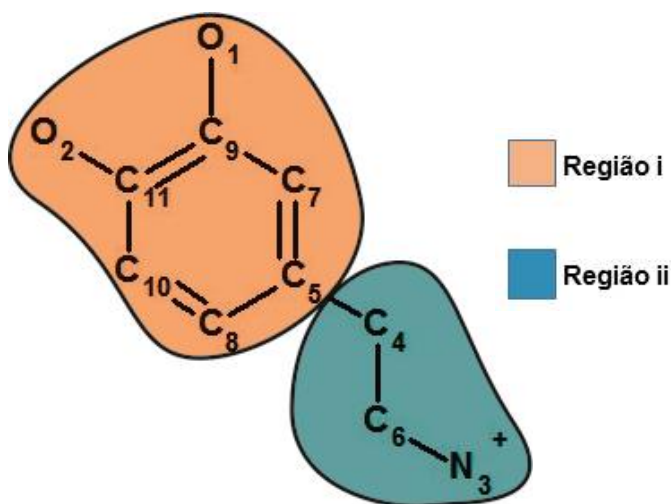


Fonte: Elaborado pelo autor. A) Distribuição de micro espécies ao longo da variação de pH. B) Micro espécies encontradas.

Procurando mimetizar as condições fisiológicas do corpo humano, o pH fisiológico do sangue (7,4) foi utilizado como parâmetro principal para a escolha da micro espécie mais relevante para este trabalho. Neste pH, o composto 4 foi o que apresentou maior abundância (cerca de 99 % de todo o *pool*). O grupo etil amina protonado estabelece uma ligação cátion- π ao anel aromático com fortes componentes eletrostáticos e indutivos devido à carga positiva localizada no grupamento NH_3^+ (MA & DOUGHERTY, 1997; LAGUTSCHENKOV *et al.*, 2011).

Após esta análise inicial, a dopamina foi dividida em porções com características químicas distintas de forma a melhor caracterizar as possíveis interações realizadas por ela. A porção correspondente ao anel aromático compreendeu a região i, enquanto que a porção etil amina abrangeu a região ii, como demonstra a figura 9.

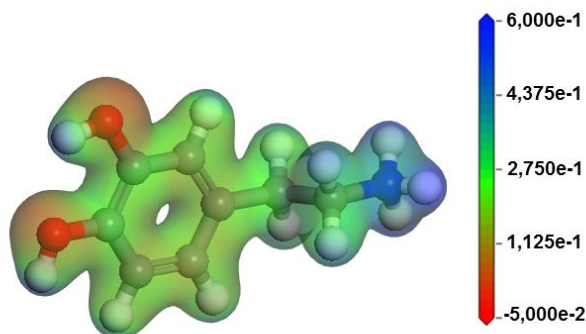
Figura 9: Estrutura química da dopamina com seus devidos átomos numerados e divididos



Fonte: Elaborado pelo autor. A região I engloba o anel aromático e a ii pertence ao grupamento etil amina com o átomo de N protonado.

Também foi investigada as regiões da dopamina que possuem maior ou menor densidade eletrônica. Como demonstrado na figura 10, as porções pertencentes aos oxigênios ligados ao anel apresentaram um maior acúmulo de elétrons. O grupamento amina, que possui um nitrogênio protonado, claramente apresenta um valor de potencial positivo.

Figura 10: Gráfico do potencial eletrostático plotado sobre uma densidade eletrônica da dopamina visualizado a partir do programa *Materials Studio*



Fonte: Elaborado pelo autor. O esquema de cores que indica os valores de potencial pode ser visualizado na barra vertical a direita.

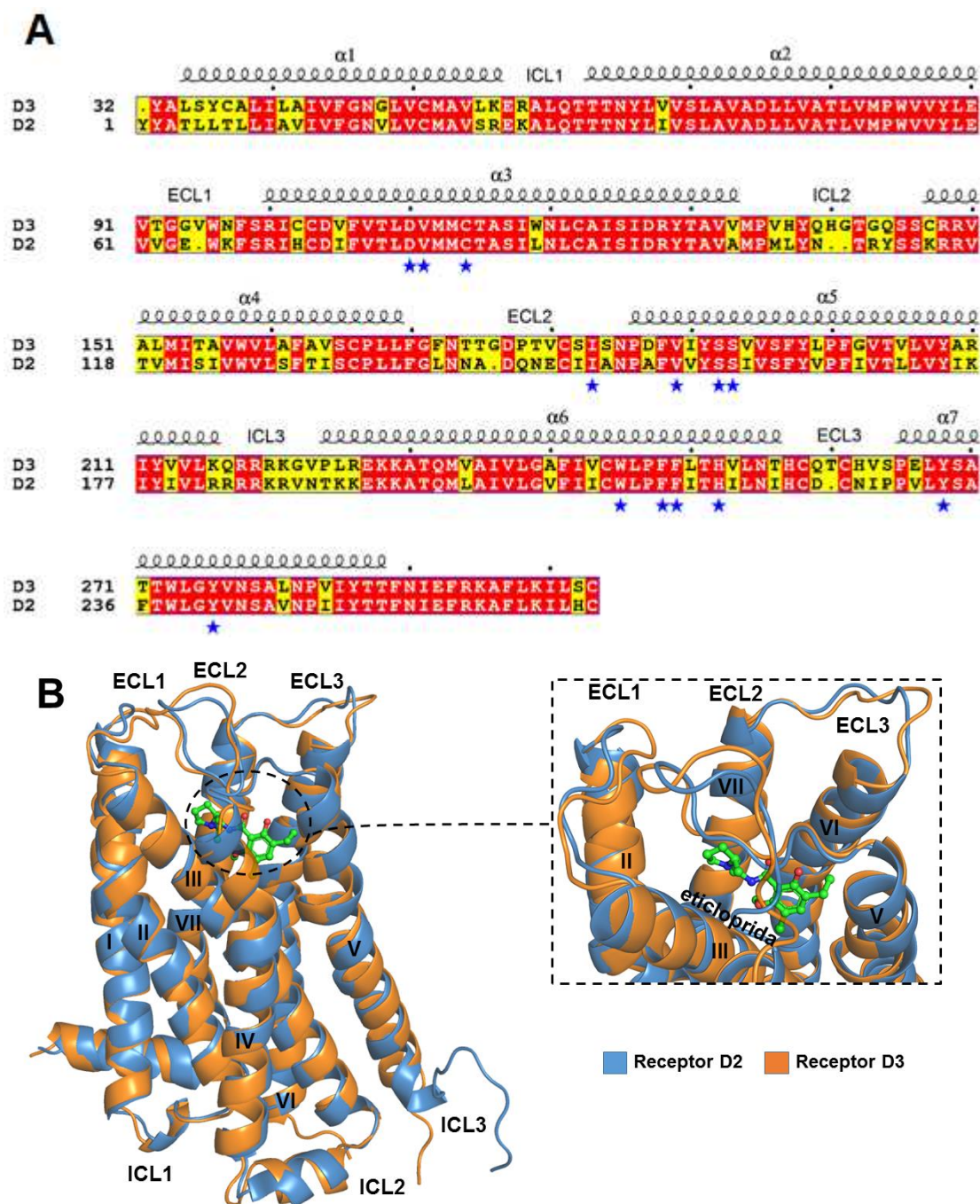
4.2 Análise estrutural dos receptores dopaminérgicos D2 e D3

O servidor ESPript 3.0 foi utilizado para realizar o alinhamento de sequência entre os receptores D2 e D3 (ROBERT & GOUET, 2014). Nesta análise a região dos receptores associados à proteína G não foi levada em consideração, sendo considerada apenas aquela contendo as hélices transmembranares e as alças dos receptores. A partir do alinhamento foi possível reafirmar o alto grau de identidade existente entre as duas proteínas nesta região, especialmente nas hélices transmembranares. A hélice 2 foi aquela que apresentou a maior semelhança enquanto que a hélice 5 a maior diferença na sequência dos resíduos. Dada a grande importância destas hélices para o ancoramento de diversos ligantes aos receptores, resíduos divergentes nestas regiões podem explicar a seletividade de determinados ligantes por um ou outro receptor dopaminérgico (CHIEN *et al.*, 2010). Diferentemente, as alças extracelulares (ECL) e intracelulares (ICL) apresentaram maiores disparidades nas suas sequências, corroborando com o fato de que apesar da alta similaridade as duas proteínas possuem regiões divergentes entre si e tais diferenças explicam em parte as suas separações em subclasses específicas.

Sobrepondo as estruturas dos receptores D2 e D3 foi possível ter uma melhor visão do alto nível de semelhança encontrado nas duas estruturas. Para se avaliar o sítio de ligação existente nas duas proteínas, a eticloprida, antipsicótico co-cristalizado com o D3 foi levado em consideração. O sítio de ligação tanto no D2 como no D3 envolve uma área que abrange os espaços extracelulares (ECL) 1, 2 e 3 das

duas proteínas, assim como também as hélices 2, 3, 4, 5, 6 e 7. Tais análises podem ser conferidas na figura 11. Resíduos marcados com estrelas serão discutidos mais à frente deste trabalho.

Figura 11: Alto nível de identidade da região envolvendo as hélices transmembranares e as alças dos receptores D2 e D3



Fonte: Elaborado pelo autor. (A) alinhamento de sequência entre D2 e D3. Abreviaturas: ICL: alça intracelular; ECL: alça extracelular; α: estruturas em hélice. (B) sobreposição de estruturas no programa PyMOL

4.3 Docking Molecular da dopamina nos receptores D2 e D3

Para cada receptor foram obtidas 10 possíveis poses da dopamina complexadas às respectivas proteínas. Os resultados gerados pelos cálculos de *docking* podem ser visualizados no quadro 3.

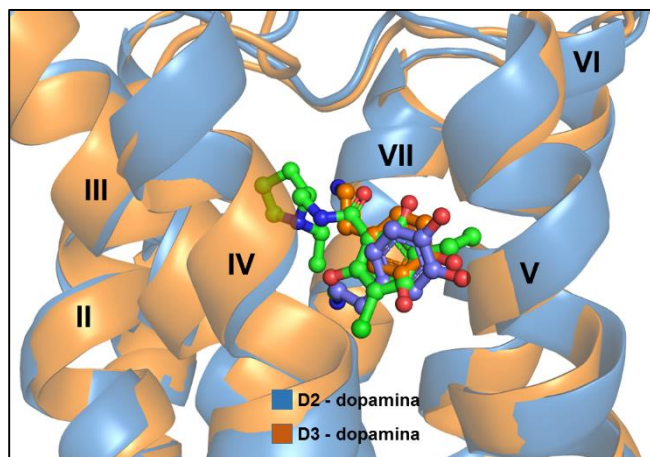
Quadro 3: Poses geradas e suas respectivas energias de ligação obtidas a partir dos cálculos de *docking*

Dopamina / Receptores	Receptor D2	Receptor D3
Pose	Energia de ligação (kcal/mol)	Energia de ligação (kcal/mol)
1	-5,2	-5,7
2	-5,1	-5,7
3	-5,0	-5,7
4	-5,0	-5,6
5	-5,0	-5,6
6	-4,9	-5,5
7	-4,8	-5,5
8	-4,6	-5,4
9	-4,6	-5,2
10	-4,5	-5,2

Fonte: elaborado pelo autor.

A eticloprida, co-cristalizada com o D3 foi utilizada para orientar a avaliação das poses. Além das interações, a coordenação do anel aromático dos ligantes foi levada em consideração na escolha da melhor pose. A partir disto, a pose 1 (-5,2 kcal/mol) foi escolhida no *docking* da dopamina com o receptor D2 e a pose 5 para o docking deste mesmo ligante no receptor D3 (-5,6 kcal/mol). Na figura 12 é possível conferir a sobreposição entre as estruturas da eticloprida e das poses selecionadas da dopamina nos dois receptores. A maior afinidade da dopamina ao receptor D3 mostrada neste ensaio corrobora com os dados encontrados na literatura referentes a outros ensaios de *docking*, assim como para dados experimentais relacionados a afinidade. (PLATANIA *et al.*, 2012; SAULTER *et al.*, 1995; FREEDMAN *et al.*, 1994).

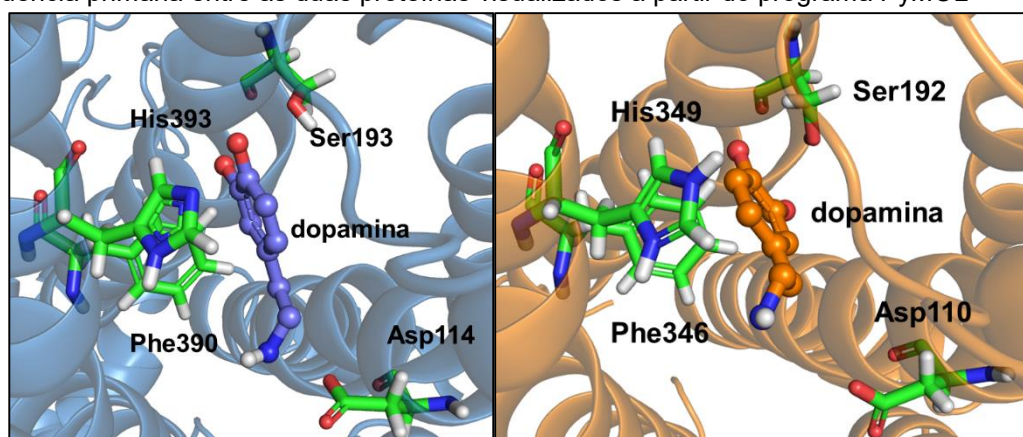
Figura 12: Sobreposição entre eticloprida e a dopamina nos receptores D2 e D3



Fonte: Elaborado pelo autor. A pose em azul se relaciona à dopamina no receptor D2. Em laranja se refere à dopamina no receptor D3. A eticloprida está destacada em verde.

Estes ensaios armazenados em bancos de dados como o *PDSP Database* e ChEMBL estabelecem como parâmetro de afinidade a constante de inibição (K_i). Esta constante é definida como a concentração necessária para que determinado ligante ocupe 50 % dos receptores (Cheng & Prusoff, 1973). Na figura 13 alguns resíduos que na literatura são apontados pertencentes ao sítio de ligação da dopamina em ambas as proteínas são mostrados. Neste trabalho todos os resíduos equivalentes dentro da sequência primária das duas proteínas seguirão a mesma regra ao serem citados: o primeiro sempre pertencerá ao D2, enquanto que o segundo, em parêntese, ao D3. Os resíduos Asp114 (Asp110) são reconhecidos como cruciais na ancoragem de diversos ligantes, inclusive a dopamina, a essas proteínas. (PLATANIA *et al.*, 2012; DUAN *et al.*, 2015; MALO *et al.*, 2012).

Figura 13: Sítio de ligação da dopamina nos receptores D2 e D3 com alguns resíduos equivalentes na sequência primária entre as duas proteínas visualizados a partir do programa PyMOL



Fonte: Elaborado pelo autor. À esquerda (em azul) se encontra o complexo D2-dopamina e à direita (em laranja) o complexo D3-dopamina

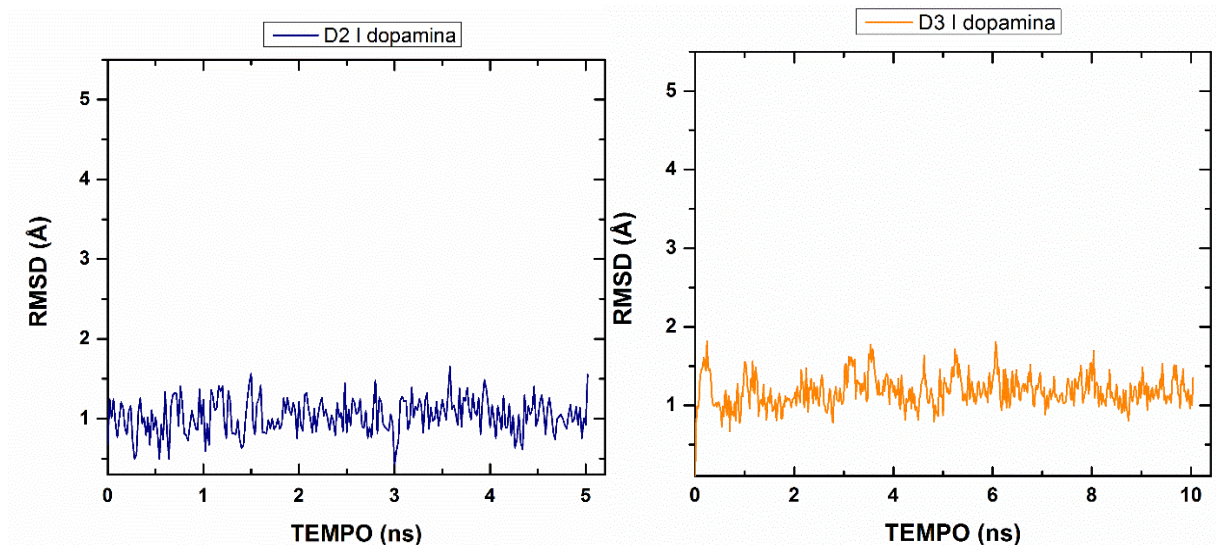
Esta ligação é estabelecida a partir de uma ponte salina entre este resíduo e o átomo de nitrogênio protonado da dopamina. As pontes salinas são caracterizadas como uma ligação forte entre dois átomos de cargas opostas e são reconhecidas por estabilizarem a estrutura e o dobramento proteico. (JELESAROV & KARSHIKOFF, 2008.) Outros resíduos também apresentam relevância como a Ser193 (Ser192) que estão em contato direto a partir de uma ligação de hidrogênio com o grupamento hidroxil da dopamina. A localização próxima das regiões aromáticas dos resíduos Phe390 (Phe346) e His393 (His349) ao sítio de ligação pode indicar a importância da região aromática destes resíduos na conexão e na estabilização de diversos agonistas aos receptores dopaminérgicos.

Cys118 (Cys114), Val115 (Val111), Ile184 (Ile183), Val190 (Val189), Ser194 (Ser193), Tyr408 (Tyr365), Trp386 (Trp342), Phe389 (Phe354) e Tyr416 (Tyr373) também se encontram presentes dentro do sítio de interação entre os receptores D2 e D3 e a dopamina e estão destacados na figura 11 por uma estrela. Os dados obtidos via *docking* permitem sugerir que não existe diferença significativa dos resíduos de aminoácidos envolvidos na ancoragem da dopamina visto que todos os resíduos do sítio são equivalentes em ambos os receptores. Entretanto, em termos de estrutura tridimensional, não é possível ser categórico, pois somente a obtenção de estruturas cristalográficas de D2 e D3 complexadas com a dopamina poderiam trazer à tona estas conclusões. Nestes dois receptores foram encontradas diferenças de posicionamento até mesmo quando dois resíduos equivalentes na estrutura primária foram comparados. A diferença na forma como as estruturas proteicas foram obtidas (D2 por modelagem comparativa e D3 por cristalização) podem ter influência nisto, além do fato de serem proteínas distintas e, portanto, podem apresentar certas diferenças estruturais.

4.4 Dinâmica molecular dos complexos D2/D3 – dopamina

Na figura 14 consta a variação de RMSD da dopamina na dinâmica envolvendo os complexos D2-dopamina e D3-dopamina ao longo do tempo de simulação.

Figura 14: Desvio quadrático médio (*root-mean-square deviation*) das posições atômicas da dopamina durante a dinâmica

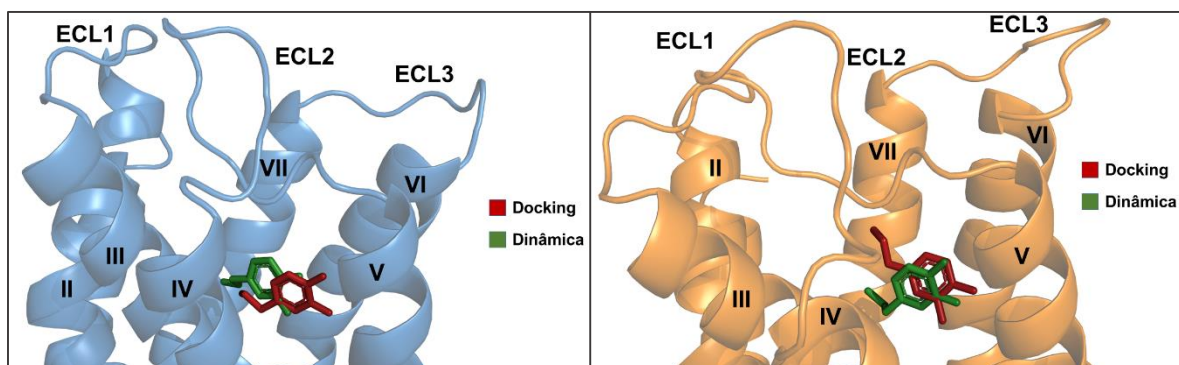


Fonte: Elaborado pelo autor.

No complexo D3-dopamina logo nos momentos iniciais da dinâmica ocorreu uma variação considerável na conformação da dopamina. Após este momento, a estrutura permaneceu estável durante o restante da dinâmica. De uma maneira geral, os gráficos demonstram a pequena variação encontrada nas coordenadas atômicas da dopamina tanto no receptor D2 como também no D3. Devido à grande estabilidade encontrada desde o início da dinâmica, o maior tempo de simulação no complexo D3-dopamina não provoca qualquer erro que prejudique as análises do conjunto de dados. A figura 15 revela o deslocamento de posição da dopamina nos receptores D2 e D3 após a dinâmica. É possível visualizar que a dopamina obteve uma nova conformação e posição, se ajustando no sítio em que está situada nos dois complexos. Isto reforça a importância da aplicação de uma dinâmica molecular com o objetivo de obter uma maior acurácia no modo de ligação das moléculas e que o método de *docking* é eficiente em termos de busca de sítio de ligação, mas falha na obtenção dos ajustes conformacionais induzidos pela entrada da dopamina nos receptores.

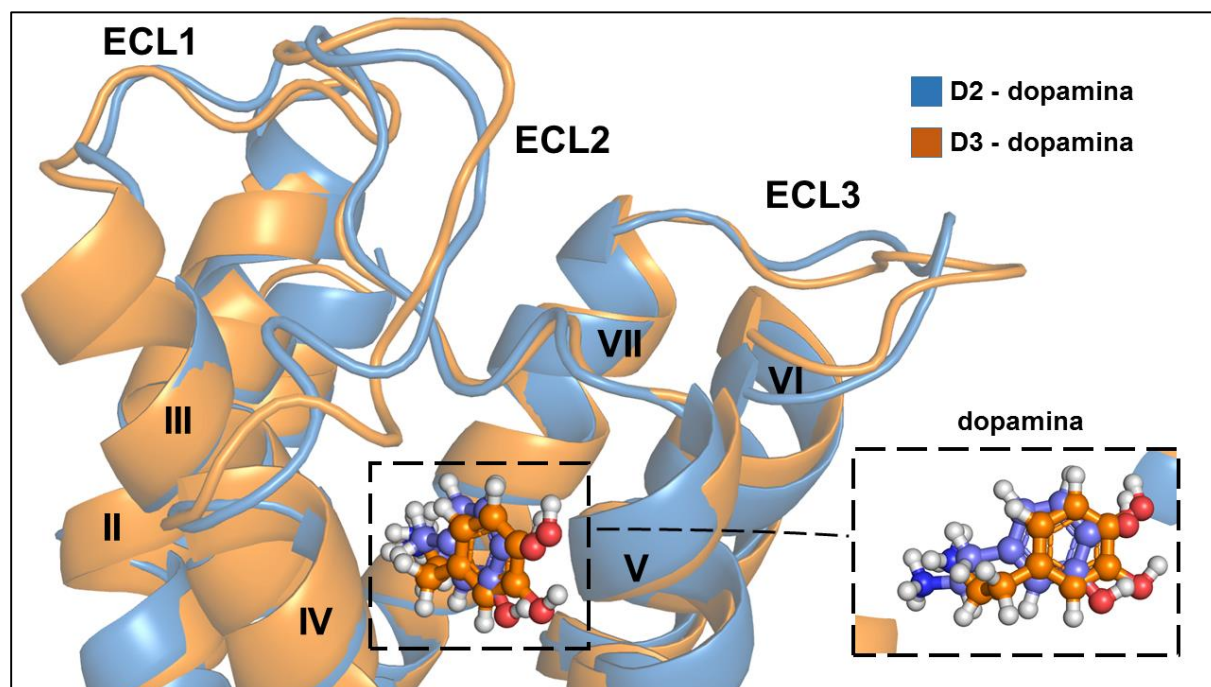
A figura 16 demonstra a diferença de conformação final da dopamina em ambos os receptores. É possível visualizar que em ambos os complexos a dopamina assumiu diferentes conformações. Dentro deste contexto se destaca o grupamento amina deste ligante, apresentando a diferença mais marcante em ambos os complexos.

Figura 15: Posição da dopamina nos complexos após os cálculos de *docking* e após as dinâmicas



Fonte: Elaborado pelo autor. O complexo D2-dopamina se encontra à esquerda, em azul e D3-dopamina (à direita, em laranja).

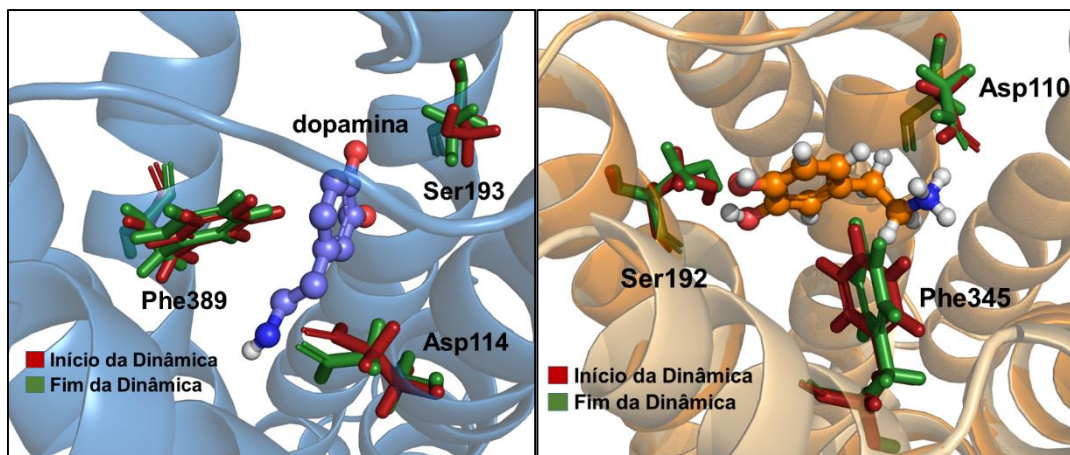
Figura 16: Conformação da dopamina após as simulações nos receptores D2 e D3



Fonte: Elaborado pelo autor. Em azul encontra-se a dopamina no receptor D2 enquanto em laranja a dopamina no receptor D3.

A figura 17 mostra o comportamento de alguns resíduos do sítio de ligação deixados flexíveis ao longo da dinâmica. É possível verificar que ocorreu uma mudança em suas orientações. Esta mudança pode impactar os cálculos quânticos que irão ser realizados, pois possuem a capacidade de alterar as distâncias entre estes resíduos e a dopamina e desta forma possibilitar ou inibir suas interações. Neste contexto, duas moléculas próximas uma da outra tendem a ter maior possibilidade de interação que aquelas em que se encontram mais afastadas ou que a ligação não seja favorecida pela conformação.

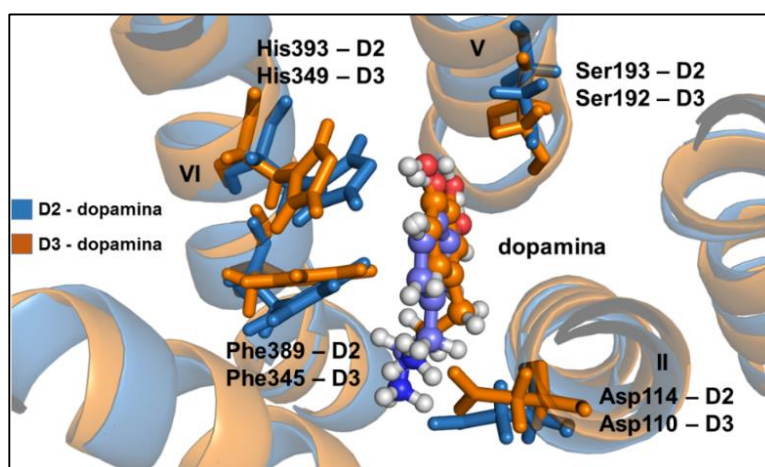
Figura 17: Mudança na orientação de alguns resíduos do sítio de interação deixados flexíveis ao longo da dinâmica



Fonte: Elaborado pelo autor. À esquerda encontra-se os resíduos e a dopamina do complexo D2-dopamina e à direita os resíduos e a dopamina do complexo D3-dopamina.

A figura 18 mostra a diferença de posicionamento entre resíduos equivalentes das duas proteínas ao final das simulações. Esta diferença é resultado das diferenças estruturais existentes nas duas estruturas, como demonstrado anteriormente na figura 11 por alinhamento e sobreposição entre os dois receptores.

Figura 18: Diferença de posicionamento ao final das simulações entre resíduos equivalentes da estrutura primária dos dois receptores dopaminérgicos (D2 e D3)



Fonte: Elaborado pelo autor.

4.5 Análise das interações a nível quântico

As contribuições individuais dos resíduos que participam da interação com a dopamina ao longo de uma interface de 10 Å foram computadas. Ao total 81

resíduos tiveram suas interações calculadas em D2-dopamina e 80 resíduos em D3-dopamina. Todas estas interações estão presentes no apêndice deste trabalho.

4.5.1 O painel BIRD

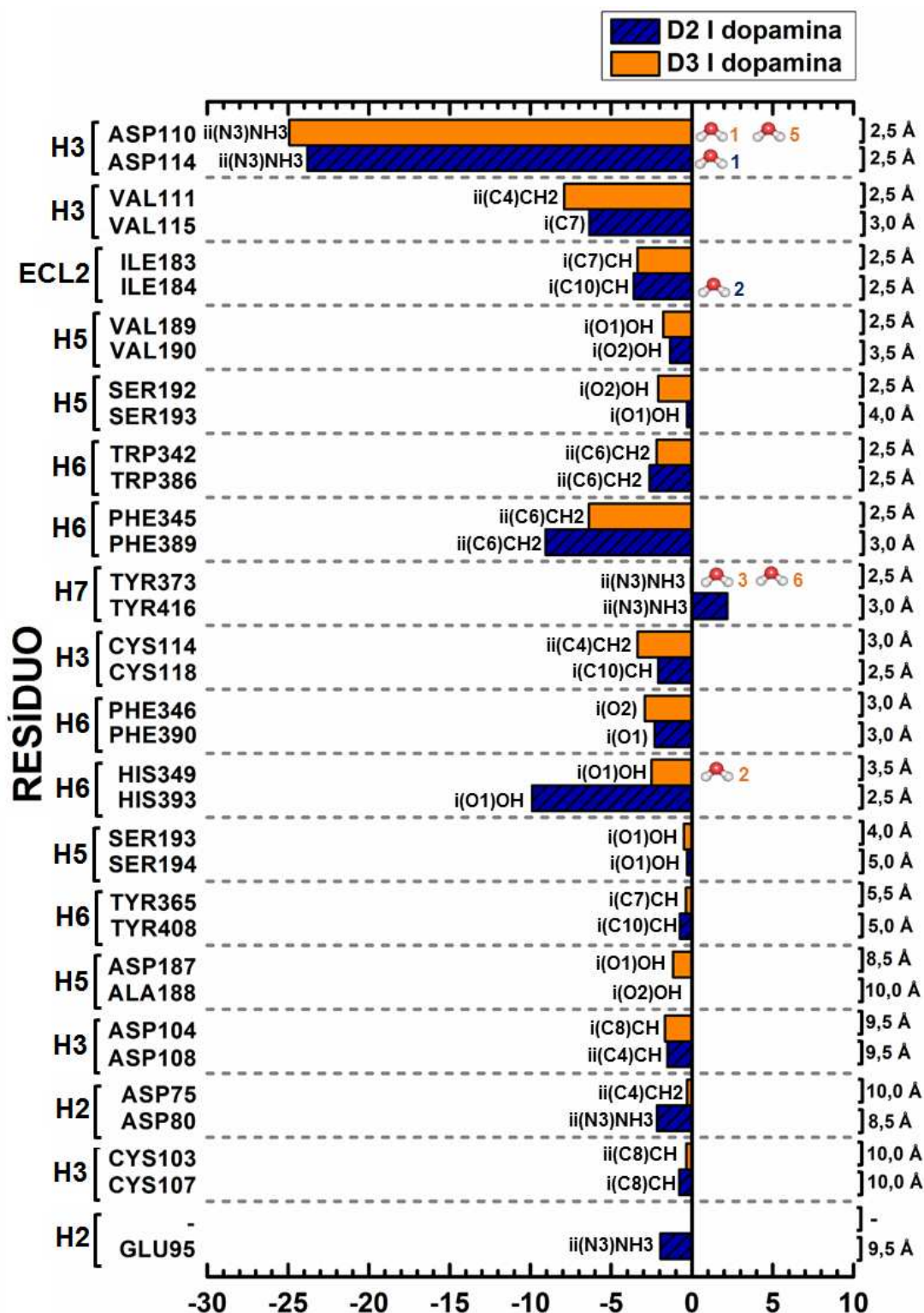
O painel BIRD com os principais resíduos e interações calculadas pode ser visualizado na figura 19. Como o objetivo deste trabalho é traçar um perfil de interação entre D2/D3 e dopamina, os fatores levados em consideração na inclusão dos resíduos equivalentes da estrutura primária das duas proteínas ao painel incluíram a energia de ligação propriamente dita e a diferença de contribuição energética destes com os receptores.

Desta forma resíduos que necessariamente não tiveram uma grande contribuição energética mas apresentaram entre si uma grande diferença de contribuição nos dois complexos foram incluídos. Todos os resíduos do sítio de ligação da dopamina com D2 e D3 foram expostos no painel e apresentaram as maiores energias de ligação. Os resíduos Asp114 (Asp110) pertencentes a hélice 3 das duas proteínas apresentaram maior energia de interação com o neurotransmissor. Enquanto Asp114 apresentou uma energia de -23,80 kcal/mol ao receptor D2, Asp110 mostrou uma interação de -24,92 kcal/mol ao receptor D3.

Outros resíduos também merecem destaque pelas suas contribuições energéticas, como Val115 (Val111), Phe389 (Phe345) e Ile184 (Ile183). Estes aminoácidos já foram previamente relatados como relevantes na ancoragem e na ligação de diversos compostos ao D2 e D3 (SALMAS *et al.*, 2017. ZANATTA *et al.*, 2012), o que corrobora com os resultados obtidos aqui. De uma maneira geral foi observado que resíduos que se encontraram mais próximos a dopamina acabaram tendo uma energia de ligação mais forte que aqueles que se encontraram mais distantes. De todos os resíduos expostos no painel, apenas o par Ile184 (Ile183) pertence a uma alça extracelular (ECL2), evidenciando a importância das regiões transmembranares na ligação da dopamina aos receptores D2 e D3. As hélices 3, 5 e 6 se destacaram no BIRD.

As diferenças de energia de ligação entre dois resíduos equivalentes da estrutura primária dos dois complexos foram impactadas por meio de dois fatores: diferença estrutural entre as duas proteínas e também pelas diferentes conformações que a dopamina assumiu no sítio de interação dos dois receptores.

Figura 19: Perfil de interação entre a dopamina e os receptores dopaminérgicos D2 e D3 demonstrado a partir do painel BIRD

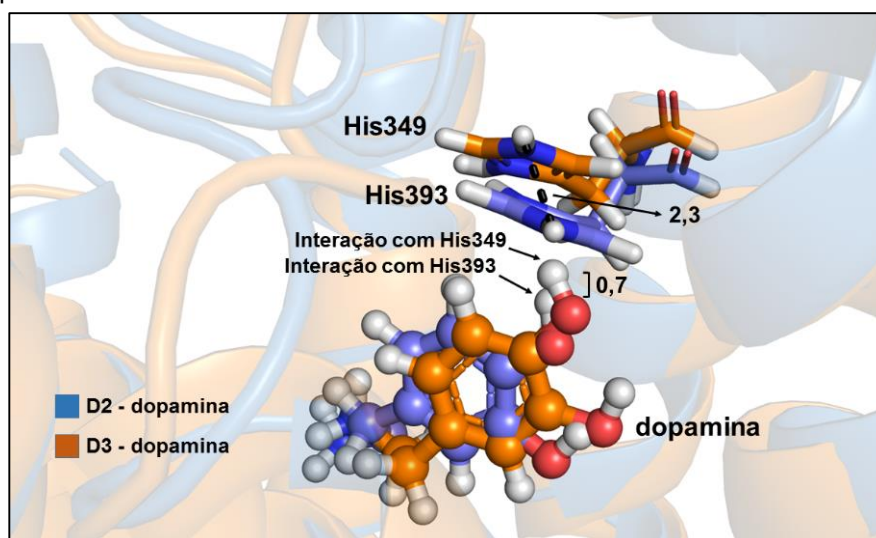


Fonte: Elaborado pelo autor. As interações no complexo D2-dopamina são caracterizadas pelas barras hachuradas em azul, enquanto que as interações no complexo D3-dopamina pelas barras em laranja. É possível observar a estrutura secundária da proteína em que o resíduo está situado à esquerda, o valor de energia de interação em barras horizontais, a região de ligação entre resíduo e a dopamina ao lado das barras, a presença de águas que participaram do cálculo quântico em determinado resíduo e a distância para a dopamina à direita do painel. Abreviatura: H: hélice; ECL: alça extracelular.

Os resíduos His393 (His349) pertencentes a hélice 6 chamam a atenção devido à disparidade na contribuição energética de cada um. Enquanto que no complexo D2-dopamina His393 apresentou uma energia de interação de -9,89 kcal/mol, His349 em D3-dopamina apresentou energia de -2,50 kcal/mol. His393 apresentou um valor de interação cerca de 4x maior que His349 e, ao contrário deste último que apresentou uma distância de 3,5 Å para a dopamina, encontrou-se a uma distância de no máximo 2,5 Å.

A figura 20 mostra a diferença de posição entre os resíduos His393 e His349 e das conformações da dopamina nos dois complexos. É possível perceber que a maior contribuição energética de His393 em D2-dopamina é impactada principalmente pela diferença estrutural existente entre as duas proteínas visto que a diferença da posição da hidroxila nas duas conformações da dopamina é pequena e menor que a diferença encontrada entre os átomos da estrutura de histidina envolvidos nesta interação.

Figura 20: Comparação entre as posições após as simulações entre os resíduos equivalentes His393 (His349) e a dopamina

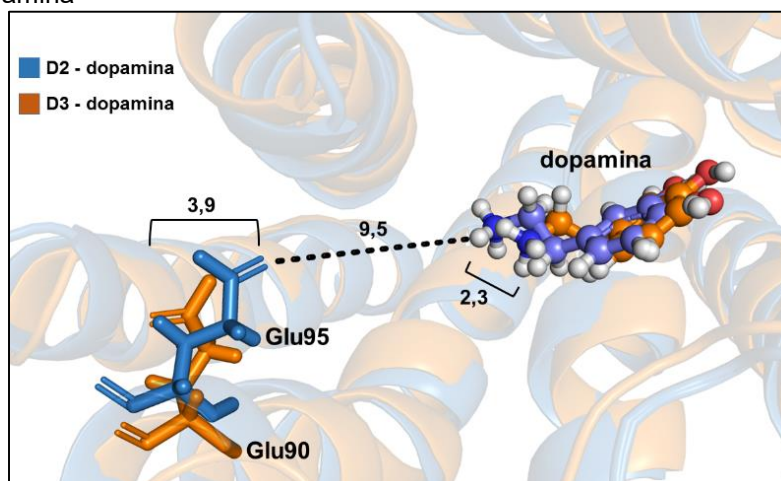


Fonte: Elaborado pelo autor.

O BIRD apresenta um par de resíduos equivalentes na sequência primária das duas proteínas divergentes entre si. Ala188 (Asp187) encontram-se a uma distância relativamente grande da dopamina (10,0 Å e 8,5 Å, respectivamente) e por isto não estão incluídos no sítio de interação da dopamina nos receptores. Asp187 possui uma energia de ligação maior (-1,18 kcal/mol) que Ala188 (-0,02 kcal/mol).

Outro ponto interessante encontrado no painel BIRD foi a presença do Glu95 no complexo D2-dopamina e a ausência do seu resíduo equivalente na estrutura primária (Glu90) em D3-dopamina. No complexo D2-dopamina este aminoácido se encontrou a 9.5 Å da dopamina, já em D3-dopamina sua distância superou o raio de 10 Å utilizada para os cálculos quânticos, explicando assim a sua ausência. A diferença citada anteriormente de resíduos que tiveram suas interações calculadas em ambos os complexos (81 em D2-dopamina e D3-dopamina) se dá justamente pela presença do Glu95 no complexo D2-dopamina e a ausência deste no outro. Pelo painel do BIRD, é possível perceber que este resíduo se mantém mais próximo da dopamina através do nitrogênio da amina pertencente a esta molécula. No complexo D2-dopamina este ligante apresenta uma variação na posição, principalmente envolvendo a sua região da amina. Isto explica a presença de Glu95 no complexo D2-dopamina e a sua ausência em D3-dopamina. Aliado a isto, como mostra a figura 21, existe uma alteração na posição de Glu95 em D2-dopamina, contribuindo para a maior aproximação deste resíduo com a dopamina. Nesta situação a dinâmica realizada não é considerada pois estes resíduos estão fora do sítio de ligação da dopamina e foram deixados travados ao longo da simulação. A distância de Glu90 do receptor D3 à dopamina pode ser vista no apêndice deste trabalho.

Figura 21: Comparação entre as posições após as simulações entre os resíduos equivalentes Glu95 (Glu90) e a dopamina



Fonte: Elaborado pelo autor.

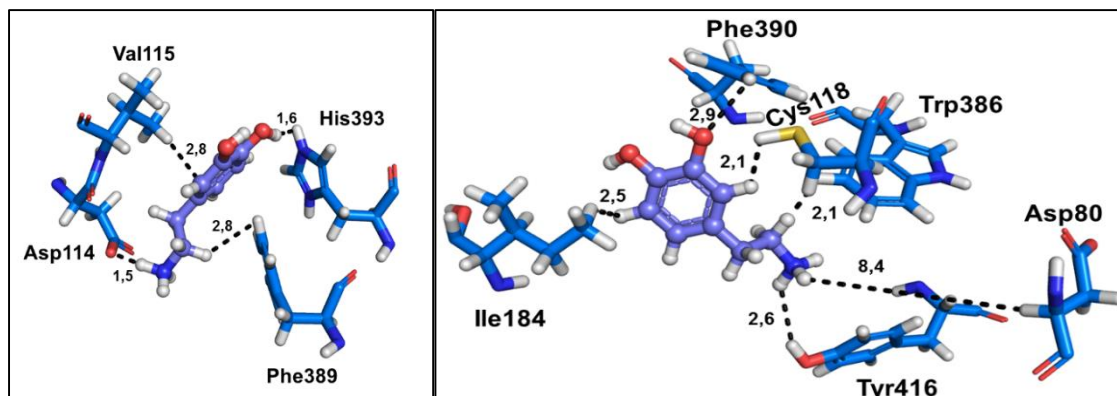
O cálculo quântico envolveu também moléculas de água estruturais provenientes das dinâmicas realizadas. Estas águas permaneceram constantemente coordenadas ao longo da dinâmica em interação com o ligante ou com resíduos via

ligações de hidrogênio. Estas moléculas, no esquema de fracionamento, participaram como capa molecular do resíduo que se encontrava mais próximo a ela. Desta maneira foi possível simular de forma mais adequada todo o ambiente em que determinado aminoácido se encontrava. Pelo painel é possível perceber que 5 resíduos tiveram a participação destas moléculas nos cálculos de interação com a dopamina. No complexo D2-dopamina temos Asp114 e Ile184. No complexo D3-dopamina foram os resíduos Asp110, Tyr373 e His349. A numeração das águas foi realizada separadamente em cada complexo, logo a água numerada como “1” em D2-dopamina não é a mesma que aquela encontrada em D3-dopamina.

Ainda pelo painel é possível identificar a região da dopamina mais próxima dos resíduos envolvidos nos cálculos. Estes resultados estão ao lado das barras que representam a energia de ligação. Esta localização teve como base a divisão da dopamina mostrada anteriormente na figura 9 e consiste, sequencialmente, pela região da dopamina, o átomo pesado e os hidrogênios envolvidos na ligação. No complexo D2-dopamina foram contabilizados doze resíduos próximos a região i da dopamina e seis à região ii. No complexo D3-dopamina das dezessete interações presentes no BIRD, oito resíduos presentes nelas foram contabilizados próximos a região i, enquanto que nove à região ii. A interação individual mais forte realizada em ambos os complexos envolvem os resíduos Asp114 e Asp110, que se encontram a uma menor distância na região ii, onde está situado o nitrogênio protonado envolvido na ponte salina com os grupos carboxílicos destes resíduos. Este tipo análise permite identificar que região do neurotransmissor possui maior importância em relação às interações identificadas com determinada proteína. Neste sentido, dependendo do objetivo do estudo e da função fisiológica do ligante e da proteína, pode-se sugerir modificações em sua estrutura visando determinado efeito farmacológico (SINGH, 2000; CAVASOTTO; 2016). Com relação a este trabalho, esta análise foi realizada unicamente para melhor descrever a formação do complexo. Os dados disponíveis no BIRD podem ser encontrados de maneira mais detalhada nos quadros 4 (D2-dopamina) e 5 (D3-dopamina) presentes no apêndice deste trabalho. As figuras 22 e 23 mostram as distâncias aferidas dos principais resíduos envolvidos na interação de D2 e D3 com a dopamina. Os resíduos Asp114 (Asp110) apresentaram menor distância em ambos os complexos (1.6 Å em D2-dopamina e 1.5 Å em D3-dopamina). As distâncias tornam possível o estabelecimento da ponte salina entre os grupos de carga opostas do Asp114 (Asp110) e do nitrogênio protonado da dopamina. Desta

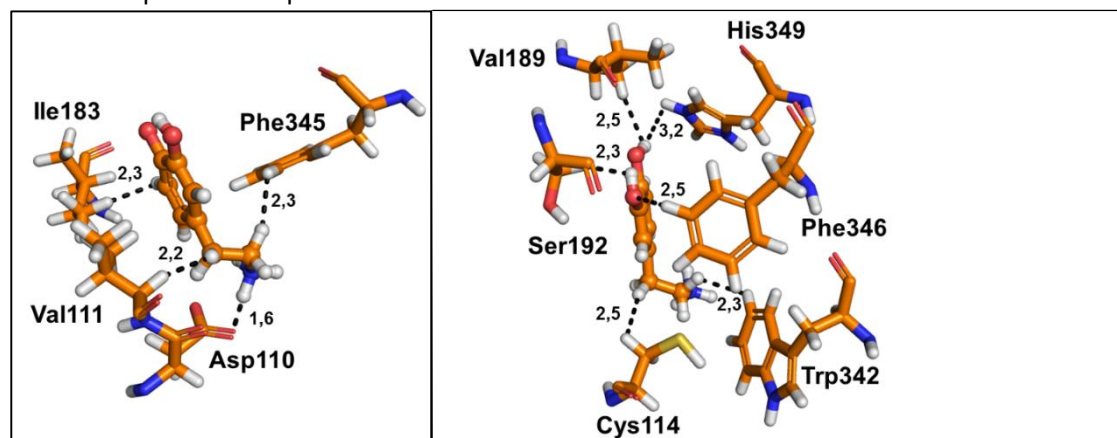
maneira, a importância destes dois resíduos na ligação de dopamina aos receptores D2 e D3 é constatada tanto estruturalmente pela distância e interação que ambos são capazes de fazer com a dopamina, assim como pelo alto valor de energia envolvido nesta interação.

Figura 22: Visualização das distâncias traçadas entre os resíduos de D2 presentes no BIRD e a dopamina no complexo D2-dopamina



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 23: Visualização das distâncias traçadas entre os resíduos de D3 presentes no BIRD e a dopamina no complexo D3-dopamina

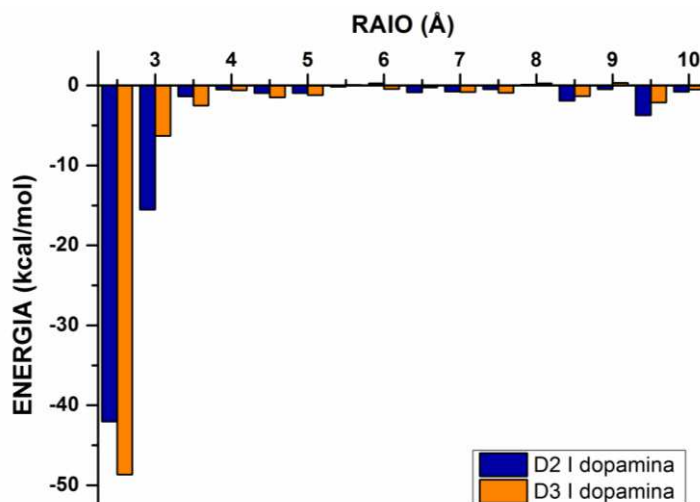


Fonte: Elaborado pelo autor.

4.5.2 A energia total de interação

A partir da contribuição energética individual dos resíduos de aminoácido é possível obter gráficos que traduzam a energia de interação total do complexo. Para compreender o desenvolvimento da interação entre uma determinada proteína e um ligante em um raio crescente podemos avaliar a contribuição específica de cada faixa de raio na energia de interação. Isto pode ser avaliado na figura 24.

Figura 24: Contribuição relativa de cada intervalo de raio na energia de interação dos complexos D2-dopamina e D3-dopamina



Fonte: Elaborado pelo autor.

Foi possível observar que os raios que apresentaram maior contribuição na interação da dopamina com os receptores D2 e D3 foram aqueles mais próximos da dopamina. Os resíduos que se encontraram em um limite de distância de 2,5 Å tiveram as contribuições mais efetivas, sendo seguido por aqueles que se encontraram a 3,0 Å. É de se esperar que as regiões mais próximas a um determinado ligante se configurem como as mais importantes na fixação e na interação com compostos. O complexo D3-dopamina apresentou uma energia maior no intervalo de 2,5 Å em comparação à D2, sendo superado por D2-dopamina no intervalo de 3,0 Å. A partir do raio de 3,5 Å é possível observar também a pouca influência dos raios na energia de interação, que se manteve baixa e praticamente constante. Na figura 25 é mostrado o gráfico de energia total de ambos os complexos. Este gráfico leva em consideração a energia total do sistema, somando as contribuições individuais de cada intervalo de raio.

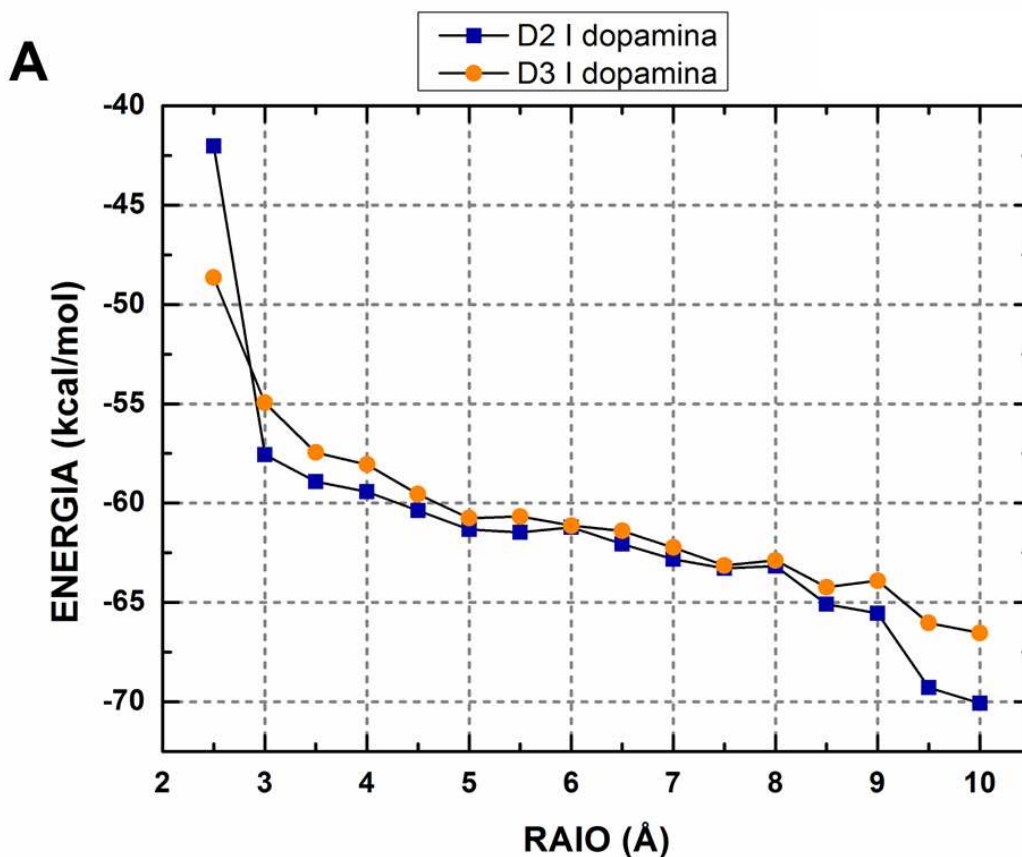
Foi constatado que a energia de interação total no complexo D2-dopamina foi praticamente igual que aquela encontrada em D3-dopamina. O primeiro complexo obteve uma energia total de -70,06 kcal/mol enquanto que o segundo alcançou energia de -66,53 kcal/mol. Em D3-dopamina foram encontrados no intervalo de 2,5 Å mais aminoácidos importantes na interação do receptor com dopamina que no complexo D2-dopamina.

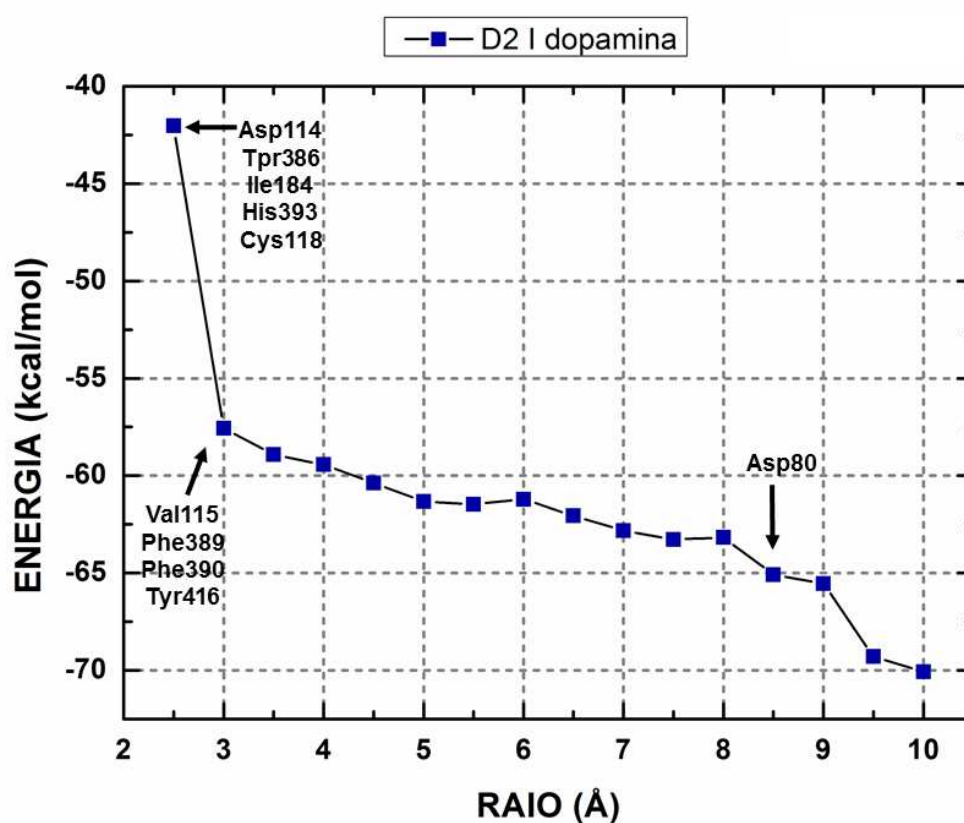
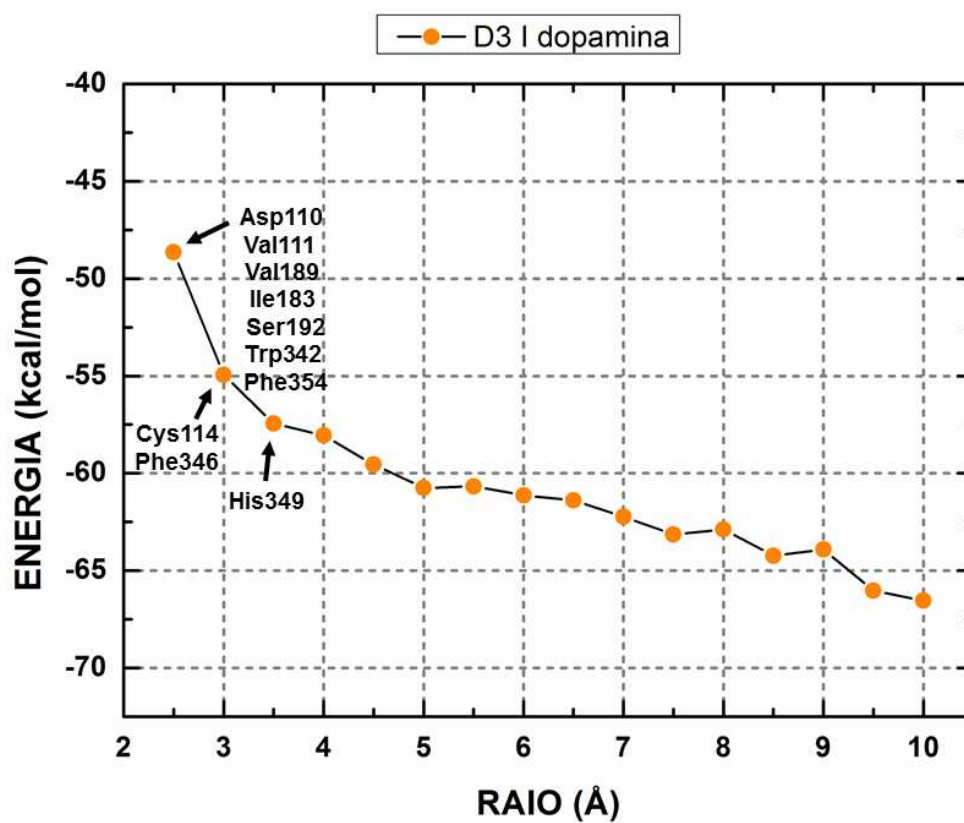
No sistema D2-dopamina, o Asp80 localizado a uma distância de 8,5 Å foi exclusivamente responsável (-2,17 kcal/mol) pela energia de interação encontrada

neste intervalo, evidenciada pela queda na linha do gráfico. O seu resíduo equivalente na estrutura primária do D3 (Asp75) não apresentou contribuição relevante, chegando a ser encontrado apenas na faixa de 10,0 Å. Outras faixas de raio apresentaram quedas semelhantes, porém com contribuição parcial pequena de cada aminoácido, que somados podem apresentar efeito semelhante ao perfil energético da energia total.

À medida que os intervalos de raio se afastaram da dopamina, a contribuição energética encontrada neles tendeu a zero. Isto fica evidenciado no gráfico de energia total, fazendo surgir um pequeno efeito de convergência de energia, mostrando exatamente que resíduos que estão longe da dopamina possuem pouca influência na interação desta com os receptores. Este efeito poderia ser melhor avaliado e evidenciado se o raio de interação fosse maior. Neste sentido, a ampliação dos cálculos deve ser realizada com mais camadas crescentes a partir do ligante para se buscar uma melhor convergência na energia de interação

Figura 25: Gráfico de energia total envolvendo os complexos D2-dopamina e D3-dopamina

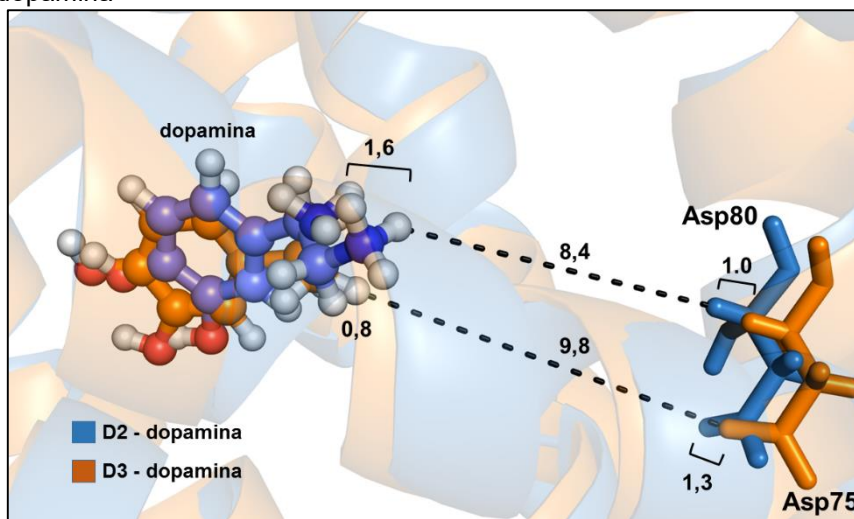


B**C**

Fonte: Elaborado pelo autor. A) Comparação entre os dois complexos. B) Complexo D2-dopamina. C) Complexo D3-dopamina. Os resíduos que dentro daquele intervalo de raio tiveram maior contribuição na interação e na energia de ligação com a dopamina foram destacados pelas setas.

A figura 26 demonstra as diferentes conformações da dopamina em ambos os complexos em relação aos resíduos Asp80 (Asp75). Aqui é possível perceber novamente a influência conjunta das diferenças tridimensionais das estruturas dos receptores, em termos de posicionamento de resíduos equivalentes da estrutura primária, e também das diferentes conformações da dopamina após as simulações. O deslocamento da região da amina da dopamina em D2, juntamente com a diferença de posição do resíduo Asp80 provocou uma redução na distância entre eles, favorecendo a interação. A dinâmica não apresentou novamente influência devido ao fato de ambos não estarem situados no sítio de interação da dopamina e por isto permaneceram travados durante a simulação.

Figura 26: Comparação entre as posições após as simulações entre os resíduos equivalentes Asp80 (Asp75) e a dopamina



Fonte: Elaborado pelo autor.

Diversos trabalhos experimentais envolvendo constantes de afinidade detectaram que a dopamina possui uma maior interação com o D3 que com o D2. Os resultados quânticos obtidos aqui contrariam estes dados experimentais. É importante enfatizar que as energias livres de ligação entre compostos químicos possuem a contribuição de dois fatores principais: a entalpia (ΔH) e a entropia (ΔS). As condições entálpicas são associadas ao estabelecimento das interações intermoleculares (como forças de van der Waals e ligações de hidrogênio) entre os compostos químicos, enquanto que as condições entrópicas estão incorporadas a mudanças conformacionais oriundas da interação entre duas moléculas. Os cálculos quânticos são executados tendo como base para análise um instante específico de todo o evento

que envolve a interação entre duas moléculas. Desta forma, não é possível correlacionar diretamente as energias de interação obtidas ao final do cálculo quântico com dados experimentais. Do ponto de vista da entalpia, é de se esperar que a análise de duas moléculas iguais e dois receptores praticamente idênticos resultem em energias de interação semelhantes. Fato este que ocorreu, tendo a diferença entre um complexo e outro de apenas 4 kcal/mol.

5. CONCLUSÕES

O presente trabalho mostrou o alto grau de identidade existente entre os receptores dopaminérgicos D2 e D3 por meio de alinhamentos da sequência de aminoácidos e também por meio da sobreposição de suas estruturas. Os cálculos de *docking* molecular indicaram que a dopamina possui uma maior afinidade com o receptor D3 que com D2. Tal resultado corrobora com dados experimentais de afinidade disponíveis na literatura. Foram detectados 13 resíduos pertencentes ao sítio de ligação de D2/D3 com a dopamina e foi observado a conservação do sítio de ligação entre as duas estruturas. A dinâmica molecular executada após o *docking* provocou uma alteração na conformação da dopamina, assim como de alguns resíduos pertencentes ao sítio de interação.

Este trabalho apresentou de forma qualitativa a importância de diversos resíduos na estabilização da dopamina no complexo com os receptores. Os resíduos Asp114 (Asp110) apresentaram as maiores contribuições energéticas na interação da dopamina com D2 e D3, respectivamente, corroborando com os dados disponíveis na literatura, onde a sua importância é pontuada. Os cálculos quânticos também mostraram a importância de outros resíduos, como Val115 (Val111), Phe345 (Phe389) e His393 (His349). No complexo D2-dopamina, a região i da dopamina, contendo o grupamento catecol, apresentou o maior número de resíduos em possível interação e próximos a ela. Situação inversa foi verificada no complexo D3-dopamina, onde a região ii foi a que obteve maior destaque. Em ambos os complexos, a região ii apresentou importância por abrigar a interação com maior energia, envolvendo o Asp114 (D2) e Asp110 (D3) dos receptores e o nitrogênio da porção amina da dopamina. As diferenças de contribuição energética entre resíduos equivalentes na sequência primária das duas proteínas podem ser justificadas pelas diferenças estruturais inerentes às duas estruturas ao fim das simulações. Determinados resíduos equivalentes, como por exemplo Glu95 (Glu90) e Asp80 (Asp75) que foram deixados rígidos durante a dinâmica, mas que apresentaram mudança de posicionamento entre si exemplificaram as diferenças estruturais entre as duas proteínas.

De acordo com os cálculos quânticos, os complexos D2-dopamina e D3-dopamina apresentaram praticamente a mesma energia total de interação (-70,06 kcal/mol no primeiro e -66,53 kcal/mol no segundo), contrariando os dados

encontrados pelos ensaios de *docking* e dados experimentais disponíveis na literatura. No entanto, o reconhecimento de uma molécula por uma proteína ocorre obrigatoriamente através de um processo dinâmico e os cálculos quânticos realizados aqui foram úteis apenas no intuito de analisar o estado ligado dos complexos D2-dopamina e D3-dopamina. Dada a semelhança estrutural entre os dois receptores estudados, é coerente verificar que as energias de ligação resultantes estejam bem próximas uma da outra.

A partir deste estudo, foi possível verificar por meio de simulações computacionais a grande dificuldade em estabelecer ligantes altamente específicos aos receptores D2 e D3. Fato este causado principalmente pela grande semelhança entre os dois receptores. As perspectivas deste trabalho incluem novos ensaios com cálculos quânticos, considerando a execução de dinâmicas mais longas em membranas, deixando todos os resíduos das proteínas livres para interação. Desta forma espera-se obter um complexo final envolvendo os receptores e a dopamina mais próximo da realidade.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANTONY, J.; GRIMME, S. Fully Ab Initio Protein-Ligand Interaction Energies with Dispersion Corrected Density Functional Theory. **J. Comput. Chem**, V. 33, p. 1730–1739, 2012.
- AYANO, G. Dopamine: Receptors, Functions, Synthesis, Pathways, Locations and Mental Disorders: Review of Literatures. **Journal of Mental Disorders and Treatment**. V. 2, p. 2–5, 2016.
- BALLANTE, F.; MARSHALL, G.R. An Automated Strategy for Binding-Pose Selection and Docking Assessment in Structure-Based Drug Design. **Journal of Chemical Information and Modeling**, V. 56, p. 54–72, 2016.
- BERRIDGE, K.C.; KRINGELBACH, M.L. Pleasure systems in the brain. **Neuron**. V. 86, p. 646–664, 2015.
- BERRIDGE, K.C.; ROBINSON, T.E. ALDRIDGE J.W. Dissecting components of reward: 'liking', 'wanting', and learning". **Current Opinion in Pharmacology**, V. 9, p. 65–73, 2009.
- BHARGAVA, K.; NATH, R.; SETH, P.K.; PANT, K.K.; DIXIT, R.K. Molecular Docking studies of D2 Dopamine receptor with Risperidone derivatives. **Bioinformation**, V. 10, p. 8–12, 2014.
- BJORKLUND, A.; DUNNETT, S.B. Dopamine neuron systems in the brain: an update. **Trends in Neurosciences**, V. 30, p. 194–202, 2007.
- BLUNDELL, T. L.; SIBANDA, B. L.; MONTALVÃO, R. W.; BREWERTON, S.; CHELLIAH, V.; WORTH, C. L.; HARMER, N. J.; DAVIES, O.; BURKE, D. Structural biology and bioinformatics in drug design: opportunities and challenges for target identification and lead discovery. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, V. 361, p. 413–423, 2006.

- BOHÓRQUEZ, H. J.; CÁRDENAS, C.; MATTA, C. F.; BOYD, R. J.; PATARROYO, M. E. Methods in Biocomputational Chemistry: A Lesson from the Amino Acids. In: (Ed.). **Quantum Biochemistry: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co**, p.403-421, 2010.
- BRINK, T.T.; EXNER, T.E. pKa based protonation states and microspecies for protein–ligand docking. **Journal of Computer-Aided Molecular Design**, V. 24, p. 935–942, 2010.
- BRITANNICA. Catecholamine, **The Editors of Encyclopædia Britannica**, 2015.
- BURSULAYA, B.D.; TOTROV, M.; ABAGYAN, R.; BROOKS, C.L. Comparative study of several algorithms for flexible ligand docking. **Journal of Computer-Aided Molecular Design**, V. 17, p. 755–763, 2003.
- CAVASOTTO, C. In **Silico Drug Discovery and Design: Theory, Methods, Challenges, and Applications**. CRC Press, 1ª edição, 2015.
- CHEN J.; LEVANT B.; WANG, S. High-affinity and selective dopamine D3 receptor full agonists. **Bioorg. Med. Chem. Lett**, V. 22, p. 5612–5617, 2012.
- CHEN, V.B.; ARENDALL W.B.; HEADD, J.J.; KEEDY, D.A.; IMMORMINO, R.M.; KAPRAL, G.J.; MURRAY, L.W.; RICHARDSON, J.S.; RICHARDSON, D.C. MolProbity: all-atom structure validation for macromolecular crystallography. **Acta Crystallographica**, V. 66, p. 12–21, 2010.
- CHENG, Y.; PRUSOFF, W.H. Relationship between the inhibition constant (KI) and the concentration of inhibitor which causes 50 per cent inhibition (I50) of an enzymatic reaction. **Biochemical Pharmacology**, V. 22, p. 3099–3108, 1973.

- CHEREZOV, V.; ROSENBAUM, D.M.; HANSON, M.A.; RASMUSSEN, S.G.; THIAN, F.S.; KOBILKA, T.S.; CHOI, H.J.; KUHN, P.; WEIS, W.I.; KOBILKA, B.K.; STEVENS, R.C. High-resolution crystal structure of an engineered human beta2-adrenergic G protein-coupled receptor. **Science**, V. 318, p. 1258–1265, 2007.
- CHIEN, E. Y. T.; LIU, W.; ZHAO, Q.; KATRITCH, V.; WON HAN, G.; HANSON, M. A.; SHI, L.; NEWMAN, A. H.; JAVITCH, J. A.; CHEREZOV, V.; STEVENS, R. C. Structure of the Human Dopamine D3 Receptor in Complex with a D2/D3 Selective Antagonist. **Science**, v. 330, p. 1091–1095, 2010.
- CHUDLER, E. H. Neurotransmitters and neuroactive peptides. **Neuroscience for Kids**. Disponível online em: <http://faculty.washington.edu/chudler/chnt1.html> (acessado em: 15/09/17).
- CITRI, A.; MALENKA, R.C. Synaptic plasticity: multiple forms, functions, and mechanisms. **Neuropsychopharmacology**, V. 33, p. 18-41, 2008.
- COLEMAN, D. E.; SPRANG, S. R. How G proteins work. **Trends in Biochemical Sciences**, V. 21, p. 41–44, 1996.
- DA COSTA, R.F.; FREIRE, V.N.; BEZERRA, E.M.; CAVADA, B.N.; CAETANO, E.W.; DE LIMA FILHO, J.L.; ALBUQUERQUE, E.L. Explaining statin inhibition effectiveness of HMG-CoA reductase by quantum biochemistry computations. **Physical Chemistry Chemical Physics**, V. 14, p. 1389–1398, 2012.
- DAHLSTROEM, A.; FUXE, K. Evidence for the existence of monoamine- containing neurons in the central nervous system. I. Demonstration of monoamines in the cell bodies of brain stem neurons. **Acta Physiological Scandinavica. Supplementum**. Suppl. 232, p. 1–55, 1964.
- DANTAS, D.S.; OLIVEIRA, J.I.N.; LIMA NETO, J.X.; DA COSTA, R.F.; BEZERRA, E.M.; FREIRE, V.N.; CAETANO, E.W.S.; FULCO, U.L.; ALBUQUERQUE, E.L. Quantum molecular modelling of ibuprofen bound to human serum albumin. **RSC Adv**, V. 5, p. 49439–49450, 2015.

- DELLEY, B. An all-electron numerical method for solving the local density functional for polyatomic molecules. **J. Chem. Phys**, V. 92, p. 508–517, 1990.
- DELLEY, B. From molecules to solids with the DMol³ approach. **J Chem Phys**, V. 113, p. 7756–7764, 2000.
- DOLINSKY, T.J.; NIELSEN, J.E.; MCCAMMON, J.A.; BAKER, N.A. PDB2PQR: an automated pipeline for the setup, execution, and analysis of Poisson-Boltzmann electrostatics calculations. **Nucleic Acids Research**, V. 32, p. 665–667, 2004.
- DOUGHERTY, D.A.; ANSLYN. E.V. Modern Physical Organic Chemistry, **University Science Books**, 5a edição, 2006.
- DUAN, X.; ZHANG, M.; ZHANG, X.; WANG, F.; LEI, M. Molecular modeling and docking study on dopamine D2-like and serotonin 5-HT_{2A} receptors. **Journal of Molecular Graphics and Modelling**, V. 57, p. 143–155, 2015.
- EHRlich, S.D. "Tyrosine". Disponível online em: <http://www.umm.edu/health/medical/altmed/supplement/tyrosine> (Acessado em: 30/09/17).
- EKHTEIARI, S.R, SERHAT, I.Y, DURDAGI, S.; STEIN, M.; YURTSEVER, M. A QM protein-ligand investigation of antipsychotic drugs with the dopamine D2 Receptor (D2R). **J. Biomol. Struct. Dyn**, p. 1–10, 2017.
- FENG, Z.; HOU, T.; LI, Y. Structure-based drug design for dopamine D3 receptor. **Comb. Chem. High Throughput Screen**, V. 15, p. 775–791, 2012.
- FREEDMAN, S.B.; PATEL, S.; MARWOOD, R.; EMMS, F.; SEABROOK, G.R.; KNOWLES, M.R.; MCALLISTER, G. Expression and pharmacological characterization of the human D3 dopamine receptor. **J. Pharmacol. Exp. Ther**, V. 268, p. 417–426, 1994.

- FU, W.; SHEN, J.; LUO, X.; ZHU, W.; CHENG, J.; YU, K.; BRIGGS, J.M.; CHEN, K.; JIANG, H. Dopamine D1 Receptor Agonist and D2 Receptor Antagonist Effects of the Natural Product (-)-Stepholidine: Molecular Modeling and Dynamics Simulations. **Biophysical Journal**, V. 93, p. 1431–1441, 2007.
- GILBERT, J. G.; NEWMAN A.H.; GARDNER, E.L.; ASHBY, C.R.J.R.; HEIDBREDER, C.A.; PAK, A.C.; PENG, X.Q.; XI, Z.X. Acute Administration of SB-277011A, NGB 2904, or BP 897 Inhibits Cocaine Cue-Induced Reinstatement of Drug-Seeking Behavior in Rats: Role of Dopamine D3 Receptors. **Synapse**, V. 57, p. 17–28, 2013.
- GIROS, B.; SOKOLOFF, P.; MARTRES, M-P.; RIOU, J-F.; EMORINE, L. J.; SCHWARTZ, J.C. Alternative splicing directs the expression of two dopamine receptor isoforms. **Nature**, V.342, p. 923–926, 1989.
- GLAZER, W.M. Extrapyramidal side effects, tardive dyskinesia, and the concept of atypicality. **The Journal of Clinical Psychiatry**, V. 61, p. 16–21, 2000.
- GOLAN, D.E.; ARMSTRONG, E.J.; ARMSTRONG, A.W.; TASHJIAN, A.H. **Princípios de Farmacologia: a base fisiopatológica da farmacoterapia**, Guanabara Koogan, 2^a edição, 2009.
- GRAHAM, P.L. An Introduction to Medicinal Chemistry. 4. New York: Oxford University Press Inc., 2009.
- HAFNER, J. A joint effort with lasting impact. **Nature Materials**, V. 9, p. 690–692, 2010.
- HANSON, M. A.; CHEREZOV, V.; ROTH, C. B.; GRIFFITH, M. T.; JAAKOLA, V.P.; CHIEN, E. Y. T.; VELASQUEZ, J.; KUHN, P.; STEVENS, R. C. (2008). A specific cholesterol binding site is established by the 2.8 Å structure of the human β 2-adrenergic receptor in an alternate crystal form. **Structure**, V. 16, p. 897–905, 2008.

- HEIDBREder, C.; NEWMAN, A.H. Current perspectives on selective dopamine D3 receptor antagonists as pharmacotherapeutics for addictions and related disorders. **Introduction to Addiction Reviews** 2, V. 1187, p. 4–34, 2010.
- HENNIG, J.; SATTler, M. The dynamic duo: Combining NMR and small angle scattering in structural biology. **Protein Science**, p. n/a-n/a, 2014.
- HOMES, A.; LACHOWICZ, J.E.; SIBLEY, D.R. Phenotypic analysis of dopamine receptor knockout mice; recent insights into the functional specificity of dopamine receptor subtypes. **Neuropharmacology**, V. 47, p. 1117–1148, 2004.
- HUMPHREY W.; DALKE A; SCHULTEN K. VMD: Visual molecular dynamics. **Journal of Molecular Graphics**, V. 14, p. 33–38, 1996.
- INADA, T.; YAGY, G.; MIURA, S. Extrapyramidal symptom profiles in Japanese patients with schizophrenia treated with olanzapine or haloperidol. **Schizophr Res**, V. 57, p. 227–238, 2002.
- Interactions from Ground-State Electron Density and Free-Atom Reference Data.
- IVERSEN, L. Neurotransmitter transporters and their impact on the development of psychopharmacology. **Br. J. Pharmacol**, V. 147 Suppl 1, p. 82–88, 2006.
- JAAKOLA, V.P; GRIFFITH, M.T.; HANSON, M. A.; CHEREZOV, V.; CHIEN, E. Y. T.; LANE, J.R.; LIZERMAN, A.P.; STEVENS, R.C. The 2.6 angstrom crystal structure of a human A2A adenosine receptor bound to an antagonist. **Science**, V. 322, p. 1211–1217, 2008.
- JABER, M.; ROBINSON, S. W.; MISSALE, C.; CARON, M. G. Dopamine receptors and brain function. **Neuropharmacology**, V.35, p; 1503–1519, 1997.
- JASKOLSKI, M.; DAUTER, Z.; WLODAWER, A. A brief history of macromolecular crystallography, illustrated by a family tree and its Nobel fruits. **FEBS Journal**, p. n/a/n/a, 2014.

- JELESAROV, I.; KARSHIKOFF, A. Defining the Role of Salt Bridges in Protein Stability. **Protein Structure, Stability, and Interactions. Methods in Molecular Biology (Methods and Protocols)**, V. 490, p. 227-260, 2008.
- JOYCE J.N. Dopamine D3 receptor as a therapeutic target for antipsychotic and antiparkinsonian drugs. **J. Pharmacol. Ther**; V. 90, p. 231–259, 2001.
- KANDEL, E.R.; SCHWARTZ, J.H.; JESSEL, T.M.; SIEGELBAUM, S.A.; HUDSPETH, A.J. 2014. **Princípios da Neurociência**, 5ª edição, Artmed, 2014.
- KANE, J.M.; Extrapiramidal side effects are unacceptable. **Eur Neuropsychopharmacology**, V. 11, 397-403, 2001.
- KEBADIAN, J. W.; CALNE, D.B. Multiple Receptors for dopamine. **Nature**, V.277, p. 93–96, 1979.
- KITCHEN D.B.; DECORNEZ H.; FURR J.R.; BAJORATH, J. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. **Nature Reviews - Drug Discovery**, V. 3, p. 935–949, 2004.
- KLING, R.C.; TSCHAMMER, N.; LANIG, H.; CLARK, T.; GMEINER, P. Active-State Model of a Dopamine D2 Receptor - Gai Complex Stabilized by Aripiprazole-Type Partial Agonists. **PLOS ONE**, V. 9, p. 1–10, 2014.
- KREBS, C.; WEINBEG, J.; AKESSON, E. **Neurociência Ilustrada**, 3ª edição, Artmed 2013.
- KROGGSGAARD-LARSEN, N.; HARPSOE, K.; KEHLER, J.; CHRISTOFFERSEN, C.T.; BROSEN, P.; BALLE, T. Revision of the Classical Dopamine D2 Agonist Pharmacophore Based on an Integrated Medicinal Chemistry, Homology Modelling and Computational Docking Approach. **Neurochem. Res**, V, 39, p. 1997–2007, 2014.

KUFLER, S.W.; NICHOLLS J.G; MARTIN A.R. **From Neuron to Brain**, 2ª edição, Oxford University Press, 1984.

LAGUTSCHENKOV, A.; LANGER, J.; BERDEN, G.; OOMENS, J.; DOPFER, O. Infrared spectra of protonated neurotransmitters: dopamine. **Phys. Chem. Chem. Phys.**, V. 13, p. 2815–2823, 2011.

LENGAUER, T.; RAREY, M. Computational methods for biomolecular docking. **Current Opinion in Structural Biology**, V. 6, p. 402–406, 1996.

LENT, R. **Cem bilhões de neurônios: conceitos fundamentais de neurociência**, 2ª edição, Atheneu, 2010.

LOPES, A. C. P.; ROSA, L. C.; BELEBONI, R. D. O.; PEREIRA, R. N. R.; VASCONCELOS, C. A. C de; MOREIRA, J. E. Aspectos Moleculares Da Transmissão Sináptica. **Medicina (Ribeirao Preto. Online)**, V.32, p. 167–188, 1999.

MA, J.C.; DOUGHERTY, D.A. The Cation– π Interaction. **Chem. Rev.**, V. 97, p. 1303–1324, 1997.

MACKERELL, A.D.Jr.; BASHFORD, D.; BELLOT, M.; DUNBRACK, R.; EVANSECK, J.D.; FIELD, M.J.; FISCHER, S.; GAO, J.; GUO, H.; HA, S.; JOSEPH-MCCARTHY, D.; KUCHNIR, L.; KUCZERA, K.; LAU, F.T.K.; MATTOS, C.M.; MICHNICK, S.W.; NGO, T.; NGUYEN, D.; PRODHOM, B.W.E., REIHER, W.E.III.; ROUX, B.III.; SCHLENKRICH, M.; SMITH, J.; STOTE, R.H.; STRAUB, J.E.; WATANABE, M.; WIÓRKIEWICZ-KUCZERA J, J.; YIN, D.; KARPLUS, M.J. All-Atom Empirical Potential for Molecular Modeling and Dynamics Studies of Proteins. **Journal of Physical Chemistry B.**, V. 102, p. 586-616, 1998. Made Simple. **Physical Review Letters**, V. 77, p. 3865–3868, 1996.

MALO, M.; BRIVE, L.; LUTHMAN, K.; SVENSSON, P. Investigation of D2 Receptor–Agonist Interactions Using a Combination of Pharmacophore and Receptor Homology Modeling. **ChemMedChem**, V. 7, p. 471–482, 2012.

- MARANHÃO, P.A.C., TEIXEIRA, C.S., SOUSA, B.L.; BARROSO-NETO, I.L.; MONTEIRO-JUNIOR, J.E.; FERNANDES, A.V., RAMOS, M.V., VASCONCELOS, I.M.; GONÇALVES, J.F.C., ROCHA, B.A.M., FREIRE, V.N.; GRANGEIRO, T.B. cDNA cloning, molecular modeling and docking calculations of L-type lectins from *Swartzia simplex* var. *grandiflora* (Leguminosae, Papilionoideae), a member of the tribe Swartzieae. **Phytochemistry**, V. 139, p. 60–71, 2017.
- MATTA, C. F. Quantum Biochemistry. **Wiley-VCH**, 2010.
- MESZAROS, K.; LENZINGER, E.; HORNIK, K.; SCHONBECK, G.; HATZINGER, R.; LANGER, G. Biperiden and haloperidol plasma levels and extrapyramidal side effects in schizophrenic patients. **Neuropsychobiology**, V. 36, p. 69–72, 1997.
- MEY, Y.; ZHANG, D.W.; ZHANG J.Z. New method for direct linear-scaling calculation of electron density of proteins. **J. Phys. Chem. A**, V. 109, p. 2–5, 2005.
- MISSALE, C.; C.; NASH, S. R.; ROBINSON, S. W.; JABER, M.; CARON, M. G. Dopamine Receptors: From Structure to Function. **Physiological Reviews**, V. 78, p. 189–225, 1998.
- MOTA, K.B.; LIMA NETO, J.X.; LIMA COSTA, A.H.; FULCO, U.L. A quantum biochemistry model of the interaction between the estrogen receptor and the two antagonists used in breast cancer treatment. **Computational and Theoretical Chemistry**, V. 1089, p. 21–27, 2016.
- MOYER, R.A.; WANG, D.; PAPP, A.C.; SMITH, R.M.; DUQUE, L.; MASH, D.C.; SADEE, W. Intronic polymorphisms affecting alternative splicing of human dopamine D2 receptor are associated with cocaine abuse. **Neuropsychopharmacology**, V. 36, p. 753–762, 2011.

- NEWMAN, A.H.; GRUNDT, P.; NADER, M.A. Dopamine D3 receptor partial agonists and antagonists as potential drug abuse therapeutic agents. **J. Med. Chem**, V. 48, p. 3663–3679, 2005.
- ORIO, M.; PANTAZIS, D. A.; NEESE, F. Density functional theory. **Photosynthesis Research**, V. 102, p. 443–453, 2009.
- OSTROWSKI, J.; KJELSBERG, M. A.; CARON, M. G.; LEFKOWITZ, R. J. Mutagenesis of the beta2-Adrenergic Receptor: How Structures Elucidates Function. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, V.32, p.167–183, 1992.
- OURIQUE, G.S.; VIANNA, J.F.; LIMA NETO, J.X.; OLIVEIRA, J.I.N.; MAURIZ, P.W.; VASCONCELOS, M.S.; CAETANO, E.W.S.; FREIRE, V.N.; ALBUQUERQUE E. L.; FULCO, UL. A quantum chemistry investigation of a potential inhibitory drug against the dengue virus. **RSC Adv**, V. 6, p. 56562–56570, 2016.
- PARK, B.H.; FISHBURN, C.S.; CARMON, S.; ACCILI, D.; FUCHS, S. Structural organization of the murine D3 dopamine receptor gene. **J. Neurochem**, V. 64, p. 482–486, 1995.
- PERDEW, J. P.; BURKE, K.; ERNZERHOF, M. Generalized Gradient Approximation Made Simple. **Physical Review Letters**, V. 77, p. 3865–3868, 1996.
- PHILLIPS, J.C.; BRAUN, R.; WANG, W.; GUMBART, J.; TAJKHORSHID, E.; VILLA, E.; CHIPOT, C.; SKEEL, R.D.; KALÉ, L.; SCHULTEN, K. Scalable molecular dynamics with NAMD. **J. Comput. Chem**, V. 26, p. 1781–1802, 2005. **Physical Review Letters**, V. 102, p. 073005, 2009.
- PILLA, M.; PERACHON, S.; SAUTEL F.; GARRIDO, F.; MANN A.; WERMUTH, C.G.; SCHWARTZ, J.C.; EVERITT, B.J.; SOKOLOFF, P.; Selective inhibition of cocaine-seeking. **Nature**, V. 400, p. 371–375, 1999.

- PLATANIA, C.B.M.; SALOMONE, S.; LEGGIO, G.M.; DRAGO, F.; BUCOLO, C. Homology Modeling of Dopamine D2 and D3 Receptors: Molecular Dynamics Refinement and Docking Evaluation. **PLoS ONE**, V. 7, p. 1–12, 2017.
- PRASAD, S.; SEMWAL, P.; DESHPANDE, S.; BHATIA, T.; LNIM-GAONKAR, V., THELMA, B. Molecular genetics of schizophrenia: past, present and future. **J. Biosci**; V. 27, p. 35–52. 2002.
- PUBCHEM: Open Chemistry Database. Dopamine. **NCBI**. Disponível online em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/dopamine#section=Information-Sources> (Acessado em: 01/09/17).
- PURVES, D.; AUGUSTINE, G.J.; FITZPATRICK, D.; HALL, W.C.; LAMANTIA, A.S.; WHITE, L.E. **Neuroscience**, 5ª edição, Sinauer Associates, 2011.
- RAHA, K., PETERS, M. B., WANG, B., YU, N., WOLLACOTT, A. M., WESTERHOFF, L. M., AND MERZ, K. M., JR. The role of quantum mechanics in structure-based drug design. **Drug Discovery Today**, V. 12, p. 725–731, 2007.
- REVEST, P.; LONGSTAFF, A. **Molecular Neuroscience**, 1ª edição, Garland Science, 1998.
- ROBERT, X.; GOUET, P. Deciphering key features in protein structures with the new ENDscript server. **Nucl. Acids Res**, V. 24, p. 320–324, 2014.
- ROBINSON, T.E.; BERRIDGE, K.C. The neural basis of drug craving: an incentive sensitization theory of addiction. *Brain Research*. **Brain Research Reviews**. V. 18 p. 247–291, 1993.
- ROMANELLI, R.J.; WILLIAMS, J.T.; NEVE, K.A. Chapter 6: Dopamine receptor signalling: intracellular pathways to behavior. *The Dopamine Receptors*. **Springer**, 2009.

- RUGGIERO, R. N.; BUENO, L. S.; DE ROSS, J. B.; FACHIM, H. A.; PADOVAN-NETO, F. E.; MERLO, S.; MOREIRA, J. E; (2011). Neurotransmissão glutamatárgica e plasticidade sináptica: Aspectos moleculares, clínicos e filogenéticos. **Medicina**, V. 44, p. 127–140, 2011.
- SADOCK, B.J.; SADOCK, V.A.; RUIZ, P. (2009) **Kaplan and Sadock's Comprehensive Textbook of Psychiatry**, 9ª edição, LWW / Tenth, 2009.
- SALMAS, R.E.; IS, Y.U.; DURDAGI, S.; STEIN, M.; YURTSEVER, M. A QM Protein-Ligand Investigation of Anti-psychotic Drugs with the Dopamine D2 Receptor (D2R). **J. Biomol. Struct. Dyn**, p. 1–10, 2017.
- SAULTER, F.; GRIFFON, N.; LÉVESQUE, D.; PILON, C.; SCHWARTZ, J.C.; SOKOLOFF, P. A functional test identifies dopamine agonists selective for D3 versus D2 receptors. **Neuroreport**, V. 6, p. 329–332, 1995.
- SCHILLEVOORT, I.; DE BOER, A.; HERINGS, R.M.; ROOS, R.A.; JANSEN, P.A.; LEUFKENS, H.G. Antipsychotic-induced extrapyramidal syndromes. Risperidone compared with low-and high-potency conventional antipsychotic drugs. **Eur J Clin Pharmacol**, V. 57, p. 327–341, 2001.
- SCHULTZ, W. Multiple dopamine functions at different time courses. **Annual Review of Neuroscience**, V. 30, p. 259–288, 2007.
- SCHULTZ, W. Neuronal reward and decision signals: from theories to data. **Physiological Reviews**. V. 95, p. 853–951, 2015.
- SEEMAN, P. Chapter 1: Historical overview: **Introduction to the dopamine receptors**. The Dopamine Receptors, 2ª edição, Humana Press, 2009.
- SHEN, J.; ZHANG, W.; FANG, H.; PERKINS, R.; TONG, W.; HONG, H. Homology modeling, molecular docking, and molecular dynamics simulations elucidated α -fetoprotein binding modes. **BMC Bioinformatics**, 14 (Suppl 14), S6, 2013.

- SHIMOHAMA, S.; SAWADA, H.; KITAMURA, Y.; TANIGUCHI, T. Disease model: Parkinson's disease. **Trends. Mol. Med**, V. 9, p. 360–365. 2003.
- SIBLEY, D. R.; MONSMA, F.J. Molecular biology of dopamine receptors. **Trends in Pharmacological Sciences**, V.13, p.61–69, 1992.
- SINGH, S. Chemistry, Design, and Structure – Activity Relationship of Cocaine Antagonists. **Chem. Rev**, V. 100, p. 925–1024.
- SOKOLOFF, P.; GIROS, B.; MARTRES, M.P.; BOUTHENET, M.L.; SCHWARTZ, J.C. Molecular cloning and characterization of a novel dopamine receptor (D3) as a target for neuroleptics. **Nature**, V. 347, p. 146–151, 1990.
- SOUSA, B.L.; BARROSO-NETO, I.L.; OLIVEIRA, E.F., FONSECA, E.; LIMA-NETO, P.; LADEIRA, L.O.; FREIRE, V.N. Explaining RANKL inhibition by OPG through quantum biochemistry computations and insights into peptide-design for the treatment of osteoporosis. **RSC Adv**, V. 6, p. 84926–84942, 2016.
- SPILLER, K.; XI, Z.X.; PENG, X.Q.; NEWMAN, A.H.; ASHBY, C.R.; HEIDBREDER, C.; GAÁL, J.; GARDNER, E.L. The selective dopamine D3 receptor antagonists SB-277011A and NGB 2904 and the putative partial D3 receptor agonist BP-897 attenuate methamphetamine-enhanced brain stimulation reward in rats. **Psychopharmacology**, V. 196, p. 533–542, 2008.
- SPRANG, S.R. G protein mechanisms: insights from structural analysis. **Annual Review of Biochemistry**. V. 66, p. 639–678, 1997.
- STAHL, S.M. Dazzled by the dominions of dopamine: clinical roles of D3, D2, and D1 receptors. **CNS Spectrums**, V. 22. p. 305–311, 2017.
- STAHL, S.M. **Stahl's Essential Psychopharmacology: Neuroscientific Basis and Practical Applications**, 3^a edição, Cambridge, 2008.

- THOMPSON, R.F. **The Brain: A Neuroscience Primer**, 3ª edição, Worth Publishers, 2000.
- TKATCHENKO, A.; SCHEFFLER, M. Accurate Molecular Van Der Waals Interactions from Ground-State Electron Density and Free-Atom Reference Data. **Physical Review Letters**, V. 102, p. 073005, 2009.
- TORRES, G.E.; AMARA, S.G. Glutamate and monoamine transporters: new visions of form and function. **Curr. Opin. Neurobiol**, V. 17, p. 304–312, 2007.
- TROTT, O.; OLSON A.J. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading. **J. Comput. Chem**, V. 31, p. 455–461, 2010.
- TUPPURAINEN, H.; KUIKKA J. T.; VIINAMAKI, H., HUSSO, M.; TIIHONEN, J. Extrapyramidal side-effects and dopamine D2/3 receptor binding in substantia nigra. **Nordic Journal of Psychiatry**, V. 64, p. 233–238, 2010.
- VAN TOL, H. H. M.; BUNZOW, J. R.; GUAN, H.C.; SUNAHARA, R. K.; SEEMAN, P.; NIZNIK, H. B.; CIVELLI, O. Cloning of the gene for a human dopamine D4 receptor with high affinity for the antipsychotic clozapine. **Nature**, V. 350, p.610–614, 1991.
- VAN TOL, H. H. M.; WU, C. M.; GUAN, H.-C.; OHARA, K.; BUNZOW, J. R.; CIVELLI, O.; KENNEDY, J.; SEEMAN, P.; NIZNIK, H. B.; JOVANOVIĆ, V. Multiple dopamine D4 receptor variants in the human population. **Nature**, V. 358, n. 6382, p. 149–152, 1992.
- VERLI, H. **Bioinformática: da Biologia à Flexibilidade Moleculares**, FAPERRGS, 1ª edição, 2014.
- VERLI, H.; BARREIRO, E. J. Um paradigma da química medicinal: a flexibilidade dos ligantes e receptores. **Química Nova**, V. 28, p. 95–102, 2005.

- VICATOS, S.; ROCA, M.; WARSHEL, A. Effective approach for calculations of absolute stability of proteins using focused dielectric constants. **Proteins: Struct. Funct. Bioinf**, V. 77, p. 670–684, 2009.
- VOLKOW, N.; FOWLER, J.; WANG G.J. Role of dopamine in drug reinforcement and addiction in humans: results from imaging studies. **Behav. Pharma**, V. 13. p. 355–366, 2002.
- VOREL S.R.; ASHBY, C.R.; PAUL, M.; LIU, X.; HAYES, R.; HAGAN, J.J.; MIDDLEMISS, D.N.; STEMP G.; GARDNER, E.L. Dopamine D3 Receptor Antagonism Inhibits Cocaine-Seeking and Cocaine-Enhanced Brain Reward in Rats. **Journal of Neuroscience**. V. 22, p. 9595–9603, 2002.
- WANG, S.; WACKER, D.; LEVIT, A.; CHE, T.; BETZ, R.M.; CMCORVY, J.D.; VENJATAKRISHNAN, A.J.; HUANG, X.P.; DROR, R.O.; SHOICHET, B.K.; ROTH, B.L. D4 dopamine receptor high-resolution structures enable the discovery of selective agonists. **Science**, V. 358, p. 381–386, 2017.
- WARNE, T., SERRANO-VEGA, M. J., BAKER, J. G., MOUKHAMETZIANOV, R., EDWARDS, P. C., HENDERSON, R.; LESLIE, A.G.W.; TATE, C.G.; SCHERTLER, G.F.X. Structure of a β 1-adrenergic G protein-coupled receptor. **Nature**, V. 454, p. 486–491, 2008.
- WEBB, B; SALI, A. Comparative Protein Structure Modeling Using Modeller. **Current Protocols in Bioinformatics**, John Wiley & Sons, Inc., V. 54, p. 1–55, 2014
- WISE, R.A. Addictive drugs and brain stimulation reward". **Annual Review of Neuroscience**. V. 19, p. 319–340, 1996.
- WISE, R.A. Dopamine and reward: the anhedonia hypothesis 30 years on. **Neurotoxicity. Res**, V. 14, p. 169–183, 2008.

- WOLFRAM, S. Predictive reward signal of dopamine neurons. **Journal of Neurophysiology**, V. 80 p. 1–27, 1998.
- XI, Z.X.; NEWMAN, A.H.; GILBERT, J.G.; PAK, A.C.; PENG, X.Q.; ASHBY, C. R.J.R.; GITAJN, L.; GARDNER, E.L. The Novel Dopamine D3 Receptor Antagonist NGB 2904 Inhibits Cocaine's Rewarding Effects and Cocaine-Induced Reinstatement of Drug-Seeking Behavior in Rats. **Neuropsychopharmacology**, V. 31, p. 1393–1405, 2006.
- XU, D.; ZHANG, Y. Ab initio protein structure assembly using continuous structure fragments and optimized knowledge-based force field. **Proteins**, V. 80, p. 1715–1735, 2012.
- XU, D.; ZHANG, Y. Improving the Physical Realism and Structural Accuracy of Protein Models by a Two-step Atomic-level Energy Minimization. **Biophysical Journal**, V. 101, p. 2525–2534, 2011.
- ZANATTA G.; BARROSO-NETO I.L.; VICTORIO BAMBINI-JUNIOR M.F.D.; DUTRA, M.F.; BEZERRA, E.M.; DA COSTA, R.F.; CAETANO, E.W.S.; CAVADA, B.S.; FREIRE, V.N.; GOTTFRIED, C. Quantum Biochemistry Description of the Human Dopamine D3 Receptor in Complex with the Selective Antagonist Eticlopride. **J. Proteomics Bioinform**, V. 5, p. 155–162, 2012.
- ZANATTA, G. Análise da ligação dos Antipsicóticos Eticloprida, Haloperidol e Risperidona no Receptor Dopaminérgico D3: Uma Abordagem por Ancoramento Molecular, Bioquímica Quântica e Dinâmica Molecular. **Tese de Doutorado** (Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica); UFRGS. Rio Grande do Sul - RS, 2014.
- ZANATTA, G.; DELLA FLORA NUNES, G.; BEZERRA, E.M.; DA COSTA, R.F.; MARTINS, A.; CAETANO, E.W.; FREIRE, V.N.; GOTTFRIED, C. Antipsychotic haloperidol binding to the human dopamine D3 receptor: beyond docking through QM/MM refinement toward the design of improved schizophrenia medicines. **ACS Chemical Neuroscience**, V. 7, p. 1331–1347, 2016.

- ZANATTA, G.; DELLA FLORA NUNES, G.; BEZERRA, E.M.; DA COSTA, R.F.; MARTINS, A.; CAETANO, E.W.; FREIRE, V.N.; GOTTFRIED, C. Two Binding Geometries for Risperidone in Dopamine D3 Receptors: Insights on the Fast-Off Mechanism through Docking, Quantum Biochemistry, and Molecular Dynamics Simulations. **ACS Chemical Neuroscience**, V. 7, p. 1331–1347, 2016.
- ZANATTA, G.; NUNES, G.; BEZERRA, E.M.; DA COSTA, R.F.; MARTINS, A.; CAETANO, E.W.; FREIRE, V.N.; GOTTFRIED, C. Antipsychotic haloperidol binding to the human dopamine D3 receptor: going beyond docking through QM/MM refinement for the design of improved schizophrenia medicines. **ACS Chemical Neuroscience**, V. 5, p. 1041–1054, 2014.
- ZHANG, D.W.; ZHANG, J.Z.H. Molecular fractionation with conjugate caps for full quantum mechanical calculation of protein-molecule interaction energy. **The Journal of Chemical Physics**, V. 119, p. 3599–3605, 2003.
- ZHANG, Y. I-TASSER server for protein 3D structure prediction. **BMC Bioinformatics**, V. 9, p. 1–8, 2008.
- ZHOU, T.; HUANG, D. Z.; CAFLISCH, A. A Quantum mechanical methods for drug design. **Curr. Top. Med. Chem**, V. 10, p. 332–345, 2010.

**APÊNDICE A - DESCRIÇÃO DETALHADA DOS RESÍDUOS CONTABILIZADOS
NO PAINEL BIRD E ENVOLVIDOS NO COMPLEXO D2-DOPAMINA**

D2 - dopamina						
Resíduo	Energia (kcal/mol)	Raio (Å)	Distância (Å)	Ligação (resíduo-dopamina)	Elemento (dopamina)	Região (dopamina)
ASP114	-23,80	2,5	1,5	O-NH3	N3	II
CYS118	-2,10	2,5	2,1	SH-CH	C10	I
ILE184	-3,61	2,5	2,5	CH3-CH	C10	I
TRP386	-2,63	2,5	2,1	CH-CH2	C6	II
HIS393	-9,89	2,5	1,6	NH-OH	O1	I
VAL115	-6,35	3	2,8	CH3-C	C7	I
PHE389	-9,06	3	2,8	CH-CH2	C6	II
PHE390	-2,31	3	2,9	CH-O	O1	I
TYR416	2,19	3	2,6	OH-NH3	N3	II
VAL190	-1,35	3,5	3,1	CH3-OH	O2	I
SER193	-0,30	4	3,6	OH-OH	O1	I
SER194	-0,29	5	4,9	CH-OH	O1	I
TYR408	-0,75	5	4,7	OH-CH	C10	I
ASP80	-2,17	8,5	8,4	CH-NH3	N3	II
GLU95	-1,95	9,5	9,5	O-NH3	N3	II
ASP108	-1,53	9,5	9,5	O-CH	C8	I
ALA188	-0,02	10	9,9	C-OH	O2	I
CYS107	-0,77	10	10	O-CH	C8	I

Fonte: elaborado pelo autor

**APÊNDICE B - DESCRIÇÃO DETALHADA DOS RESÍDUOS CONTABILIZADOS
NO PAINEL BIRD E ENVOLVIDOS NO COMPLEXO D3-DOPAMINA**

D3 - dopamina						
Resíduo	Energia (kcal/mol)	Raio (Å)	Distância (Å)	Ligação (resíduo-dopamina)	Elemento (dopamina)	Região (dopamina)
ASP110	-24,92	2,5	1,6	O-NH3	N3	II
VAL111	-7,9	2,5	2,2	CH-CH2	C4	II
ILE183	-3,37	2,5	2,3	CH3-CH	C7	I
VAL189	-1,77	2,5	2,5	CH3-OH	O1	I
SER192	-2,09	2,5	2,3	CH2-OH	O2	I
TRP342	-2,19	2,5	2,3	CH-CH2	C6	II
PHE345	-6,37	2,5	2,3	CH-CH2	C6	II
CYS114	-3,37	3	2,5	CH2-CH2	C4	II
PHE346	-2,92	3	2,5	CH-O	O2	I
HIS349	-2,5	3,5	3,2	NH-OH	O1	I
TYR373	-0,05	2,5	2,4	OH-NH3	N3	II
SER193	-0,5	4	3,8	NH2-OH	O1	I
TYR365	-0,37	5,5	5,4	OH-CH	C7	I
ASP187	-1,18	8,5	8,3	CH-OH	O1	I
ASP104	-1,67	9,5	9,5	O-CH	C4	II
CYS103	-0,35	10	9,6	OH-CH	C8	II
ASP75	-0,3	10	9,8	O-CH2	C6	II

Fonte: Elaborado pelo autor.

**APÊNDICE C - DISTRIBUIÇÃO SOB UMA INTERFACE DE 10 Å DOS RESÍDUOS
EQUIVALENTES NA ESTRUTURA PRIMÁRIA DOS RECEPTORES D2 E D3 E
SUAS ENERGIAS DE LIGAÇÃO COM A DOPAMINA**

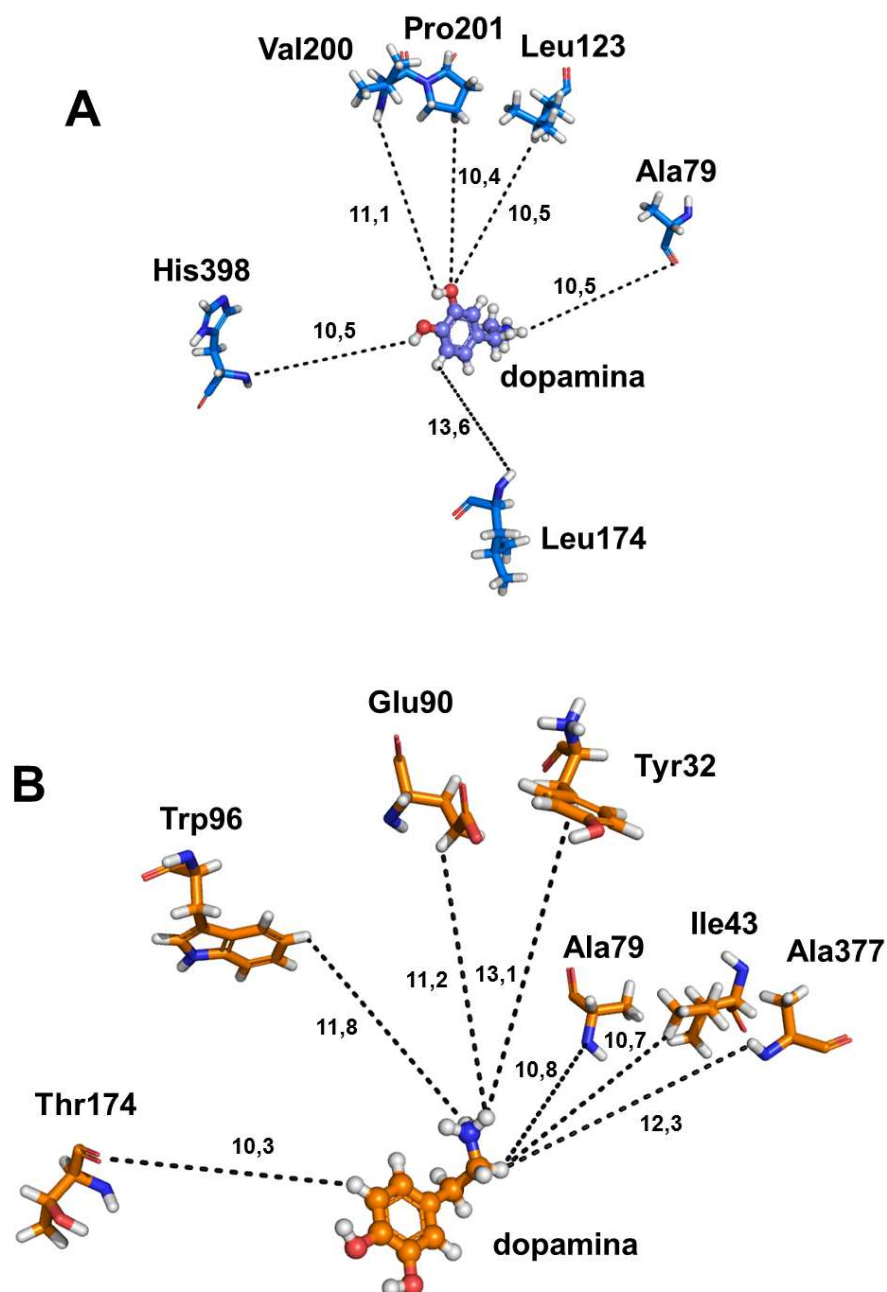
D2 - dopamina				D3 – dopamina			
Resíduo (D2)	Constante dielétrica	Energia de ligação (kcal/mol)	Raio (Å)	Resíduo (D3)	Constante dielétrica	Energia de ligação (kcal/mol)	Raio (Å)
ASP114	20	-23,80	2,5	ASP110	20	-24,92	2,5
CYS118	20	-2,10	2,5	CYS114	20	-3,37	3
ILE184	20	-3,61	2,5	ILE183	20	-3,37	2,5
TRP386	20	-2,63	2,5	TRP342	20	-2,19	2,5
HIS393	20	-9,89	2,5	HIS349	20	-2,50	3,5
VAL115	20	-6,35	3	VAL111	20	-7,90	2,5
PHE389	20	-9,06	3	PHE345	20	-6,37	2,5
PHE390	20	-2,31	3	PHE346	20	-2,92	3
TYR416	20	2,19	3	TYR373	20	-0,05	2,5
VAL190	20	-1,35	3,5	VAL189	20	-1,77	2,5
ILE183	20	-0,22	4	SER182	20	0,80	5,5
SER193	20	-0,30	4	SER192	20	-2,09	2,5
THR412	20	0,02	4	THR369	20	-0,70	4,5
VAL111	20	-0,76	4,5	VAL107	20	-0,80	5
MET117	20	0,06	4,5	MET113	20	0,33	6,5
SER197	20	-0,25	4,5	SER196	20	-0,10	4
SER194	20	-0,29	5	SER193	20	-0,50	4
ILE397	20	-0,07	5	THR353	20	0,07	6,5
TYR408	20	-0,75	5	TYR365	20	-0,37	5,5
GLY415	20	0,17	5	GLY372	20	0,05	5,5
VAL83	20	-0,14	5,5	VAL78	20	-0,15	6
VAL87	20	0,04	5,5	VAL82	20	0,10	5
VAL91	20	-0,05	5,5	VAL86	20	0,04	6
LEU113	20	0,50	6	LEU109	20	0,38	6
MET116	20	-0,09	6	MET112	20	-0,40	5,5
ILE166	20	0,04	6	VAL164	20	-0,02	7
PHE189	20	-0,14	6	PHE188	20	-0,80	4,5
PHE198	20	-0,06	6	PHE197	20	-0,16	6
MET88	20	-0,65	6,5	MET83	20	-0,52	7,5
THR119	20	-0,21	6,5	THR115	20	-0,50	5
LEU170	20	-0,01	6,5	LEU168	20	-0,05	6
PHE411	20	0,02	6,5	THR368	20	-0,25	7
PHE110	20	-0,36	7	PHE106	20	-0,35	6,5
THR112	20	-0,17	7	THR108	20	-0,32	6
ILE394	20	-0,22	7	VAL350	20	-0,20	6
SER167	20	-0,05	7,5	SER165	20	-0,18	7,5

ALA185	20	-0,16	7,5	SER184	20	-0,14	6,5
VAL191	20	-0,09	7,5	ILE190	20	-0,14	6,5
PHE382	20	-0,17	7,5	PHE338	20	-0,24	7
TRP413	20	-0,31	7,5	TRP370	20	-0,24	7,5
ASN418	20	0,35	7,5	ASN375	20	0,25	9
SER419	20	-0,02	7,5	SER376	20	0,01	9,5
TYR37	20	-0,01	8	TYR32	-	-	> 10
TRP100	20	-0,04	8	TRP96	-	-	> 10
ASN186	20	-0,13	8	ASN185	20	-0,22	7
PRO187	20	-0,15	8	PRO186	20	-0,11	8,5
ILE195	20	-0,05	8	VAL194	20	-0,11	7
CYS385	20	0,10	8	CYS341	20	0,33	9
LEU414	20	0,18	8	LEU371	20	0,13	9
VAL417	20	0,20	8	VAL374	20	-0,01	9
LEU41	20	-0,01	8,5	TYR36	20	-0,09	8,5
ASP80	20	-2,17	8,5	ASP75	20	-0,30	10
LEU94	20	0,18	8,5	LEU89	20	0,10	9,5
ALA120	20	0,08	8,5	ALA116	20	0,07	8
ILE122	20	0,11	8,5	ILE118	20	0,11	8
ASN175	20	-0,13	8,5	ASN173	20	-0,07	8,5
TYR192	20	-0,01	8,5	TYR191	20	-0,02	6,5
VAL196	20	0,02	8,5	VAL195	20	0,04	7,5
TYR199	20	-0,08	8,5	TYR198	20	-0,01	8
THR392	20	0,27	8,5	THR348	20	0,14	9
SER409	20	-0,16	8,5	SER366	20	-0,21	9,5
SER121	20	0,10	9	SER117	20	0,07	8
CYS182	20	-0,62	9	CYS181	20	-0,49	9
LEU387	20	-0,27	9	LEU343	20	-0,21	9,5
PRO388	20	0,07	9	PRO344	20	0,13	9,5
ILE391	20	0,06	9	LEU347	20	-0,02	9
ASN396	20	0,19	9	ASN352	20	0,26	8,5
ILE48	20	0,06	9,5	ILE43	-	-	> 10
ALA84	20	-0,19	9,5	ALA79	-	-	> 10
GLU95	20	-1,95	9,5	GLU90	-	-	> 10
ASP108	20	-1,53	9,5	ASP104	20	-1,67	9,5
ILE109	20	-0,10	9,5	VAL105	20	-0,15	9,5
ALA410	20	-0,02	9,5	ALA367	20	-0,10	9,5
TRP90	20	0,07	10	TRP85	20	0,16	9,5
CYS107	20	-0,77	10	CYS103	20	-0,35	10
SER163	20	-0,03	10	ALA161	20	-0,08	9,5
ASN176	20	-0,16	10	THR174	-	-	> 10
ALA177	20	-0,01	10	THR175	20	-0,01	10
ALA188	20	-0,02	10	ASP187	20	-1,18	8,5
LEU395	20	0,09	10	LEU351	20	0,09	9,5
ALA420	20	0,06	10	ALA377	-	-	> 10

ALA79	-	-	> 10	ALA74	20	-0,19	9,5
HIS398	-	-	> 10	HIS354	20	-0,15	8,5
LEU123	-	-	> 10	LEU119	20	0,09	10
LEU174	-	-	> 10	PHE172	20	-0,05	10
VAL200	-	-	> 10	LEU199	20	0,06	10
PRO201	-	-	> 10	PRO200	20	0,06	10

Fonte: Elaborado pelo autor.

APÊNDICE D – RESÍDUOS QUE SE ENCONTRARAM FORA DA INTERFACE DE 10 Å USADA PARA OS CÁLCULOS QUÂNTICOS NO COMPLEXO D2-DOPAMINA E D3-DOPAMINA



Fonte: Elaborado pelo autor. A) Resíduos do complexo D2-dopamina. B) Resíduos do complexo D3-dopamina.