



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS**  
**DEPARTAMENTO DE FÍSICA**  
**CURSO DE GRADUAÇÃO EM FÍSICA**

**FRANCISCO RONALDO ALVES DA SILVA**

**BIOLOGIA COMPUTACIONAL E BIOQUÍMICA QUÂNTICA DOS OPIOIDES:  
DESCRIÇÃO COMPARATIVA DAS INTERAÇÕES INTERMOLECULARES DO  
FENTANIL E DA MORFINA LIGADOS AO RECEPTOR  $\mu$ - OPIOIDE**

**FORTALEZA**

**2024**

FRANCISCO RONALDO ALVES DA SILVA

BIOLOGIA COMPUTACIONAL E BIOQUÍMICA QUÂNTICA DOS OPIOIDES:  
DESCRIÇÃO COMPARATIVA DAS INTERAÇÕES INTERMOLECULARES DO  
FENTANIL E DA MORFINA LIGADOS AO RECEPTOR  $\mu$  – OPIOIDE

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado  
ao Curso de Graduação em Física do Centro  
de Ciências da Universidade Federal do Ceará,  
como requisito parcial à obtenção do grau de  
Bacharel em Física.

Orientador: Prof. Dr. Valder Nogueira  
Freire..

FORTALEZA

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Sistema de Bibliotecas  
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- S58b Silva, Francisco Ronaldo Alves da.  
Biologia computacional e bioquímica quântica dos opioides : Descrição comparativa das interações intermoleculares do fentanil e da morfina ligados ao receptor mu-opioide / Francisco Ronaldo Alves da Silva. – 2024.  
98 f. : il. color.
- Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Curso de Física, Fortaleza, 2024.  
Orientação: Prof. Dr. Valder Nogueira Freire.
1. Receptor mu-opioide. 2. Morfina. 3. Fentanil. 4. Nocicepção. 5. Bioquímica quântica. I. Título.  
CDD 530
-

FRANCISCO RONALDO ALVES DA SILVA

BIOLOGIA COMPUTACIONAL E BIOQUÍMICA QUÂNTICA DOS OPIOIDES:  
DESCRIÇÃO COMPARATIVA DAS INTERAÇÕES INTERMOLECULARES DO  
FENTANIL E DA MORFINA LIGADOS AO RECEPTOR  $\mu$ - OPIOIDE

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado  
ao Curso de Graduação em Física do Centro  
de Ciências da Universidade Federal do Ceará,  
como requisito parcial à obtenção do grau de  
Bacharel em Física.

Aprovada em: 04/09/2024

BANCA EXAMINADORA

---

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

---

Prof. Dr. Jackson Lima Amaral.  
Universidade Federal do Piauí (UFPI)

---

Prof. Dr. Paulo de Tarso Cavalcante Freire  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

À meus pais, Antonia Alves e Manoel Veira,  
a minha esposa, Dafne Lima e ao meu irmão  
Reginaldo Alves (*in memoriam*).

## AGRADECIMENTOS

Em prelúdio, agradeço a Deus. Sem Ele, nenhuma realização seria possível, como está escrito: “*porque sem mim nada podeis fazer*” (João 15:5) e “*nele vivemos, e nos movemos, e existimos*” (Atos 17:28), como disse o apóstolo Paulo.

Agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) pelo apoio financeiro através da bolsa de iniciação científica no último ano de graduação.

Sou grato à Universidade Federal do Ceará (UFC) pela estrutura e pelos aprendizados que foram fundamentais para a minha formação profissional.

Ao Prof. Dr. Valder Nogueira Freire, expresso minha gratidão pela excelente orientação, pelo conhecimento e conselhos transmitidos, especialmente na escrita de trabalhos acadêmicos e pesquisa.

Agradeço ao meu amigo de laboratório, Victor Lucas Bernardes França, por ensinar as metodologias realizadas no laboratório e pelas colaborações que desempenharam um importante papel na elaboração deste trabalho.

Também agradeço ao Prof. Dr. Jackson Lima Amaral pelas considerações e sugestões que muito contribuíram para o aprimoramento deste trabalho.

Sou igualmente grato ao Prof. Dr. Paulo de Tarso Cavalcante Freire por aceitar participar da banca examinadora e pelas considerações que também favoreceram a melhoria deste trabalho.

Agradeço aos professores que contribuíram para a minha formação acadêmica no curso de graduação em Física: Alexandre Rocha Paschoal, Alejandro Pedro Ayala, André Auto Moreira, Humberto de Andrade Carmona, Ilde Guedes da Silva, João Milton Pereira Júnior, José Ramos Gonçalves, Murilo Pereira de Almeida, Ricardo Renan Landim de Carvalho, Roberto Vinhaes Maluf Cavalcante, Saulo-Davi Soares e Reis, Valder Nogueira Freire e Cristina Paiva.

Sou grato a todos os servidores da UFC e funcionários terceirizados que permitiram, na medida do possível, o funcionamento da universidade.

Agradeço também à Seara da Ciência, um centro de divulgação e educação científica da Universidade Federal do Ceará, em parceria com o observatório astronômico Ferruccio Ginelli, destacando especialmente o Dr. Ilde Guedes da Silva e o Dr. Ednardo Rodrigues.

De modo especial, agradeço profundamente aos meus amados pais, Antonia Alves e Manoel Vieira, que sempre estiveram comigo, apoiando e incentivando toda a minha vida de estudos desde a mais tenra idade, educando-me para a vida. À minha amada esposa, Dafne Lima,

pelo companheirismo, amizade, risadas, brincadeiras, amor e por me apoiar na conclusão desta monografia, além das diversas correções gramaticais na escrita deste trabalho.

Agradeço aos meus irmãos, Reginaldo Alves (*in memoriam*), Francisco Alves, Ednaldo Alves, Evaneide Alves e Conceição Alves, pela amizade e colaboração na minha formação.

Sou grato aos meus padrinhos de casamento, Ismara Leal e Maxwell Tavares, pela constante cordialidade, prontidão e, acima de tudo, pela amizade

Agradeço aos amigos que fiz durante minha graduação em Física: Rubens Xavier, pela ajuda e parceria em algumas disciplinas, especialmente pela troca de conhecimentos nas disciplinas de Mecânica Quântica I e II; Victor Lucas, Emerson Mesquita, Sybele Albuquerque, João Pedro, por algumas sugestões que melhoram este trabalho, deixando mais claro alguns pontos, Hadad Cortez, Ednardo Rodrigues, Mariana Alves, José Barbosa, Liciane Lourenço, Vanessa Amorim, Caio Bruno, e muitos outros, pelas colaborações, sugestões, refeições no restaurante universitário, conversas e risadas.

Também sou grato aos amigos mais antigos: Valdanho Martins, Rafael Souza, Micael Alencar, Anabio Ribeiro, Landim Alves, desde o ensino médio. Agradeço a Bhrenner Santos, Fabrício Souza, Cristiano Marreiro, Frede Castro, Emerson Almeida, Rômulo Alves, Renan Quirino, Darlan Ferreira, Walker Castelo, Marcelo Rocha, Raí Teles, Vanessa Vasconcelos, Renata Monteiro, Lindauriane Vieira (*in memoriam*), Damião Souza, Lukas Dias; aos professores, Rafael Eufrazio, Tiago Gadelha, Kiara Lima, Diego Ponciano e tantos outros durante o tempo em que estive cursando a graduação em Matemática no IFCE *campus* Canindé.

Por fim, agradeço a Deus, mais uma vez, pelo dom da vida, pela saúde e pela coragem de me empenhar e concluir cada trabalho iniciado, sem desistir apesar das dificuldades. Sou grato por Sua presença em todos os momentos de felicidade e desafio.

Convém recordar estas palavras de Santo Agostinho: Une-te à eternidade de Deus e serás eterno; une-te à eternidade de Deus e espera com Ele os acontecimentos que se passam abaixo de ti. Consideremos os diversos momentos de nossa vida terrena, não somente na linha horizontal do tempo que corre entre passado e o futuro, mas na linha vertical que nos liga ao único instante da imóvel eternidade. Então nossos atos serão cada vez mais meritórios e realizados por amor de Deus, passarão do tempo à eternidade, onde permanecerão escritos sempre no livro da vida. (Garrigou-Lagrange, 2018, p. 33).



## RESUMO

O receptor  $\mu$ -opioide ( $\mu$ OR) é um dos quatro subtipos de receptores opioides conhecidos ( $\mu$ ,  $\delta$ ,  $\kappa$  e NOP) e desempenha um papel fundamental na sinalização dos efeitos analgésicos dos opioides endógenos e sintéticos. Clinicamente, a administração de opioides como morfina (MOR) e fentanil (FEN) visa o controle da dor em pacientes com doenças crônicas, câncer e outras enfermidades. No entanto, esses medicamentos apresentam efeitos colaterais graves, como depressão respiratória e risco de dependência, limitando seu uso terapêutico. Diante disso, este projeto visa estudar, a nível molecular, utilizando ferramentas de biologia computacional e bioquímica quântica, o mecanismo e a energia de interação de dois principais opioides, morfina e fentanil ao  $\mu$ OR e com isso, fornecer informações que possam contribuir para o desenvolvimento de novos fármacos que apresentem alta eficiência analgésica aliada a poucos efeitos colaterais. Para tanto, preparou-se as estruturas dos complexos  $\mu$ OR::MOR e  $\mu$ OR::FEN presentes nos cristais com PDB (Protein Data Bank) IDs 8EF6 e 8EF5, respectivamente. Após, os complexos foram inseridos dentro de uma bicamada fosfolipídica (POPC). Posteriormente, foram realizadas simulações independentes de minimização de energia, equilíbrio e dinâmica molecular (DM) em triplicata dos dois sistemas utilizando o GROMACS. Por fim, foram realizados cálculos de bioquímica quântica para quantificar as energias de interação entre as drogas e o receptor através da Teoria do Funcional da Densidade (DFT). Como resultado, identificou-se fortes interações energéticas dos resíduos do  $\mu$ OR com ambos os ligantes, alcançando valores de energia de interação de  $-74,21 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$  (dinâmica 3) e  $-69,43 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$  (dinâmica 1) para fentanil e morfina, respectivamente. Para a morfina, foram localizados resíduos críticos em TM3 (MET153, ASP149, TYR150), TM6 (HIS299, ILE298, TYR328, VAL302) e TM7 (ILE324, TRP295). Para o fentanil, os resíduos mais interativos foram encontrados em TM3 (ASP149, MET153, ILE146, CYS142, TYR150), TM6 (ILE298, TRP295, HIS299), TM7 (ILE324, GLY327, TYR328, TRP320), TM5 (LYS235, VAL238) e TM2 (GLN126). Além disso, a média da interação de energia para a morfina foi de  $-65,34 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$  e para o fentanil foi de  $-63,80 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ , sugerindo que a primeira possui menor energia de interação, interagindo mais fortemente com o  $\mu$ OR. Os resultados obtidos neste trabalho podem contribuir para a concepção de novos fármacos com maior especificidade pelos receptores  $\mu$ -opioides.

**Palavras-chave:** receptor  $\mu$ -opioide; morfina; fentanil; nocicepção; bioquímica quântica.

## ABSTRACT

The  $\mu$ -opioid receptor ( $\mu$ OR) is one of the four known subtypes of opioid receptors ( $\mu$ ,  $\delta$ ,  $\kappa$ , and NOP) and plays a fundamental role in signaling the analgesic effects of both endogenous and synthetic opioids. Clinically, the administration of opioids such as morphine (MOR) and fentanyl (FEN) aims to control pain in patients with chronic diseases, cancer, and other illnesses. However, these medications present serious side effects, such as respiratory depression and the risk of dependence, limiting their therapeutic use. Given this, this project aims to study, at the molecular level, using computational biology and quantum biochemistry tools, the mechanism and interaction energy of two major opioids, morphine and fentanyl, with  $\mu$ OR and, with this, provide information that may contribute to the development of new drugs that offer high analgesic efficiency with few side effects. To this end, the structures of the  $\mu$ OR::MOR and  $\mu$ OR::FEN complexes present in the crystals with PDB IDs 8EF6 and 8EF5, respectively, were prepared. Afterward, the complexes were inserted into a phospholipid bilayer (POPC). Subsequently, independent simulations of energy minimization, equilibrium, and molecular dynamics (MD) were performed in triplicate for the two systems using GROMACS. Finally, quantum biochemistry calculations were performed to quantify the interaction energies between the drugs and the receptor through Density Functional Theory (DFT). As a result, strong energetic interactions of the  $\mu$ OR residues with both ligands were identified, achieving interaction energy values of  $-74,21; kcal \cdot mol^{-1}$  (dynamics 3) and  $-69,43; kcal \cdot mol^{-1}$  (dynamics 1) for fentanyl and morphine, respectively. For morphine, critical residues were located in TM3 (MET153, ASP149, TYR150), TM6 (HIS299, ILE298, TYR328, VAL302), and TM7 (ILE324, TRP295). For fentanyl, the most interactive residues were found in TM3 (ASP149, MET153, ILE146, CYS142, TYR150), TM6 (ILE298, TRP295, HIS299), TM7 (ILE324, GLY327, TYR328, TRP320), TM5 (LYS235, VAL238), and TM2 (GLN126). Furthermore, the average interaction energy for morphine was  $-65,34 kcal \cdot mol^{-1}$ , and for fentanyl, it was  $-63,80 kcal \cdot mol^{-1}$ , suggesting that the former has a lower interaction energy with  $\mu$ OR. The results obtained in this work may contribute to the design of new drugs with greater specificity for  $\mu$ -opioid receptors.

**Keywords:**  $\mu$ -opioid receptor; morphine; fentanyl; nociception; quantum biochemistry.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Representação bidimensional dos dois principais fármacos antinociceptivos. (A) Estrutura química da molécula de morfina visualizada em 2D. (B) Estrutura química da molécula do fentanil apresentada em 2D. . . . . 23
- Figura 2 – Representação tridimensional do receptor  $\mu$ -opioide ( $\mu$ OR) na bicamada fosfolipídica (POPC) e de dois dos principais fármacos antinociceptivos. (A) Visualização do  $\mu$ OR na membrana. (B) Molécula da morfina com a representação dos respectivos átomos e suas ligações. (C) Molécula do fentanil com a representação dos respectivos átomos e suas ligações. . . . . 24
- Figura 3 – Exposição tridimensional do  $\mu$ OR na bicamada fosfolipídica POPC destacando os fosfolípidios que estão em interação próxima com o  $\mu$ OR. (A) e (C) Ilustração do  $\mu$ OR na membrana no tempo  $t = 0ns$ . (B) e (D) Visualização do  $\mu$ OR na membrana no tempo  $t = 100ns$ . . . . . 26
- Figura 4 – Resultados do re-docking usando o AutoDock Vina e Haddock para o ligante, morfina (verde), representando a pose do cristal e o  $\mu$ OR (azul ardósia escuro). (A) e (C) representam os sistemas avaliados em condições de pH 7,4; (B) e (D) correspondem às poses de ligação mais similares aos dados obtidos por cristalografia. As tabelas à direita mostram as pontuações de escore  $kcal \cdot mol^{-1}$  e o RMSD Å das respectivas poses indicadas pelas duas ferramentas. (A e B) são os resultados do Vina e (C e D) os resultados do Haddock. . . . . 37
- Figura 5 – Resultados do re-docking usando o AutoDock Vina e Haddock para o ligante, fentanil (ciano) e o  $\mu$ OR (azul ardósia escuro). (A) e (C) representam os sistemas avaliados em condições de pH 7,4; (B) e (D) correspondem às poses de ligação mais similares aos dados obtidos por cristalografia, o que indica que essas conformações são mais próximas da estrutura real do fentanil e são representadas nas cores magenta, laranja, verde e vermelho. As tabelas à direita mostram as pontuações de escore  $kcal \cdot mol^{-1}$  e o RMSD Å das respectivas poses indicadas pelas duas ferramentas. (A e B) são os resultados do Vina e (C e D) os resultados do Haddock. . . . . 38

- Figura 6 – Gráficos de RMSD *versus* tempo de simulação (em ns). (A) e (B) exibem os valores de RMSD para o  $\mu$ OR e a morfina. (C) e (D) mostram os valores de RMSD para o  $\mu$ OR e o fentanil. As linhas destacadas nas cores verde limão, amarelo forte, verde limão claro, ciano, azul e azul escuro mostram os RMSD  $\text{\AA}$  de todos os átomos pesados na morfina, fentanil e  $\mu$ OR, respectivamente. 40
- Figura 7 – RMSF dos resíduos do  $\mu$ OR, considerando os átomos da cadeia  $\alpha$ . (A) Gráficos de RMSF para os átomos  $C\alpha$ - $\mu$ OR (morfina) considerando os aminoácidos do  $\mu$ OR em DM1, DM2 e DM3, nas cores verde limão, magenta e laranja, respectivamente. (B) Gráficos de RMSF para os átomos  $C\alpha$ - $\mu$ OR (Fentanil) levando em conta os resíduos do  $\mu$ OR em DM1, DM2 e DM3, nas cores preto, vermelho e azul, respectivamente. Além disso, as alças intracelulares (ECL1), extracelulares (ECL2) e as hélices transmembranares (TM) são representadas. . . . . 41
- Figura 8 – Variação temporal do número de ligações de hidrogênio para a morfina e fentanil nas três réplicas de dinâmica molecular de 100 ns. (A), (B) e (C) representam o número de ligações de hidrogênio entre a morfina e o  $\mu$ OR em suas respectivas repetições em função do tempo, onde DM1, DM2 e DM3 representam as dinâmicas para a morfina, enquanto (D), (E) e (F) indicam o mesmo para o complexo  $\mu$ OR::FEN, sendo DM1, DM2 e DM3 as representações das dinâmicas para o fentanil. . . . . 43
- Figura 9 – Descrição das interações intermoleculares no complexo  $\mu$ OR::MOR (MD1). (A) Diagrama BIRD apresentando a energia de interação  $\text{kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$  dos 20 principais resíduos com a morfina e as regiões da transmembrana (TM) do  $\mu$ OR. A distância de cada resíduo ao centroide da morfina é fornecida no lado direito do painel. Também são indicados os números de moléculas de água explícitas que participam da interação. (B) Ilustração 3D que ilustra os resíduos que se destacam por suas intensas interações energéticas com a morfina. (C) Interações não covalentes dentro de um raio de 10  $\text{\AA}$  do ligante, morfina, com as distâncias  $\text{\AA}$  de cada interação listadas. . . . . 47

Figura 10 – Descrição das interações intermoleculares no complexo  $\mu\text{OR}::\text{MOR}$  (MD2). (A) Diagrama BIRD apresentando a energia de interação  $\text{kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$  dos 20 principais resíduos com a morfina e as regiões da transmembrana (TM) do  $\mu\text{OR}$ . A distância de cada resíduo ao centroide da morfina é fornecida no lado direito do painel. Também são indicados os números de moléculas de água explícitas que participam da interação. (B) Ilustração 3D que ilustra os resíduos que se destacam por suas intensas interações energéticas com a morfina. (C) Interações não covalentes dentro de um raio de 10 Å do ligante, morfina, com as distâncias Å de cada interação listadas. . . . . 48

Figura 11 – Descrição das interações intermoleculares no complexo  $\mu\text{OR}::\text{MOR}$  (MD3). (A) Diagrama BIRD apresentando a energia de interação  $\text{kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$  dos 20 principais resíduos com a morfina e as regiões da transmembrana (TM) do  $\mu\text{OR}$ . A distância de cada resíduo ao centroide da morfina é fornecida no lado direito do painel. Também são indicados os números de moléculas de água explícitas que participam da interação. (B) Ilustração 3D que ilustra os resíduos que se destacam por suas intensas interações energéticas com a morfina. (C) Interações não covalentes dentro de um raio de 10 Å do ligante, morfina, com as distâncias Å de cada interação listadas. . . . . 49

Figura 12 – Descrição das interações intermoleculares no complexo  $\mu\text{OR}::\text{FEN}$  (MD1). (A) Diagrama BIRD apresentando a energia de interação  $\text{kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$  dos 20 principais resíduos com o fentanil e as regiões da transmembrana (TM) do  $\mu\text{OR}$ . A distância de cada resíduo ao centroide da morfina é fornecida no lado direito do painel. Também são indicados os números de moléculas de água explícitas que participam da interação. (B) Ilustração 3D que ilustra os resíduos que se destacam por suas intensas interações energéticas com a morfina. (C) Interações não covalentes dentro de um raio de 10 Å do ligante, morfina, com as distâncias Å de cada interação listadas. . . . . 54

- Figura 13 – Descrição das interações intermoleculares no complexo  $\mu\text{OR}::\text{FEN}$  (MD2).  
 (A) Diagrama BIRD apresentando a energia de interação  $\text{kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$  dos 20 principais resíduos com o fentanil e as regiões da transmembrana (TM) do  $\mu\text{OR}$ . A distância de cada resíduo ao centroide da morfina é fornecida no lado direito do painel. Também são indicados os números de moléculas de água explícitas que participam da interação. (B) Ilustração 3D que ilustra os resíduos que se destacam por suas intensas interações energéticas com a morfina. (C) Interações não covalentes dentro de um raio de 10 Å do ligante, morfina, com as distâncias Å de cada interação listadas. . . . . 55
- Figura 14 – Descrição das interações intermoleculares no complexo  $\mu\text{OR}::\text{FEN}$  (MD3).  
 (A) Diagrama BIRD apresentando a energia de interação  $\text{kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$  dos 20 principais resíduos com o fentanil e as regiões da transmembrana (TM) do  $\mu\text{OR}$ . A distância de cada resíduo ao centroide da morfina é fornecida no lado direito do painel. Também são indicados os números de moléculas de água explícitas que participam da interação. (B) Ilustração 3D que ilustra os resíduos que se destacam por suas intensas interações energéticas com a morfina. (C) Interações não covalentes dentro de um raio de 10 Å do ligante, morfina, com as distâncias Å de cada interação listadas. . . . . 56
- Figura 15 – Resultados da bioquímica quântica para o complexo  $\mu\text{OR}::\text{MOR}$ . (A) Diagrama BIRD apresentando a energia de interação  $\text{kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$  dos 20 principais resíduos com a morfina e as regiões da transmembrana (TM) do  $\mu\text{OR}$ . (B) Painel mostrando a média da energia de interação dos resíduos do  $\mu\text{OR}$  com a morfina. O raio de cada resíduo ao centroide da MOR é fornecido no lado direito do painel. Também são indicados os números de moléculas de água explícitas que participam da complexação. . . . . 60
- Figura 16 – Resultados da bioquímica quântica para o complexo  $\mu\text{OR}::\text{FEN}$ . (A) Diagrama BIRD apresentando a energia de interação  $\text{kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$  dos 20 principais resíduos com o fentanil e as regiões da transmembrana (TM) do  $\mu\text{OR}$ . (B) Painel mostrando a média da energia de interação dos resíduos do  $\mu\text{OR}$  com o fentanil. O raio de cada resíduo ao centroide do FEN é fornecido no lado direito do painel. Também são indicados os números de moléculas de água explícitas que participam da complexação. . . . . 61

- Figura 17 – Sobreposição da conformação final extraída de cada dinâmica das estruturas do  $\mu$ OR (azul ardósia escuro) ligadas à morfina (verde) e ao fentanil (ciano), evidenciando as regiões das transmembranas (TM) e alças extracelulares (ECLs). (A) MOR interagindo com os resíduos de aminoácidos mais interativos do  $\mu$ OR. (B) FEN interagindo com os resíduos de aminoácidos mais interativos do  $\mu$ OR. . . . . 64
- Figura 18 – Mapeamento das regiões da transmembrana (TM) e alças extracelulares (ECLs) do  $\mu$ OR (azul ardósia escuro) interagido com a morfina (verde) e o fentanil (ciano) nas suas dinâmicas moleculares DM1, DM2 e DM3. (A - C) mostram os resíduos mais interativos com a MOR. (D - F) destacam os resíduos mais interativos o FEN. Os aminoácidos do sítio de interação do  $\mu$ OR com menores energia de ligação com os ligantes são coloridos por azul ardósia escuro. . . . . 65
- Figura 19 – Descrição das hélices transmembranares (TMs), alças intracelulares e extracelulares (ICLs) e (ECLs) do  $\mu$ OR. (A) e (C) representam a morfina e o fentanil ligados ao receptor  $\mu$ -opioide. (B) e (D) mostram os ligantes no sítio ortostérico do  $\mu$ OR. . . . . 66
- Figura 20 – Perfil de energia total da interação  $E_T$  entre a morfina e os resíduos do  $\mu$ OR em função do raio do sítio de ligação. O gráfico apresenta a soma das energias obtidas nas dinâmicas DM1 (verde limão), DM2 (amarelo forte) e DM3 (verde claro). Os principais resíduos de acordo com as distâncias são identificados no gráfico. . . . . 68
- Figura 21 – Perfil de energia total da interação  $E_T$  entre o fentanil e os resíduos do  $\mu$ OR em função do raio do sítio de ligação. O gráfico apresenta a soma das energias obtidas nas dinâmicas DM1 (ciano), DM2 (azul claro) e DM3 (azul escuro). Os principais resíduos de acordo com as distâncias são identificados no gráfico. 69

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Descrição quântica das principais interações do complexo $\mu\text{OR}::\text{MOR}$ . Apresentam-se as médias das distâncias em Å para as três DMs e as energias de interação e suas respectivas médias (em $\text{kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ ) de 20 resíduos do $\mu\text{OR}$ com menor energia de interação pelo receptor $\mu$ -opioide. . . . .	57
Tabela 2	– Descrição quântica das principais interações do complexo $\mu\text{OR}::\text{FEN}$ . Apresentam-se as médias das distâncias Å para as três DMs e as energias de interação e suas respectivas médias $\text{kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ de 20 resíduos do $\mu\text{OR}$ com menor energia de interação pelo receptor $\mu$ -opioide. . . . .	58
Tabela 3	– Média de energia de interação dos resíduos mais interativos nas hélices transmembranares do $\mu\text{OR}::\text{MOR}$ . . . . .	63
Tabela 4	– Média de energia de interação dos resíduos mais interativos nas hélices transmembranares do $\mu\text{OR}::\text{FEN}$ . . . . .	63
Tabela 5	– Suplementar. Descrição quântica da interação entre os resíduos do $\mu\text{OR}$ e a morfina em um raio de ligação de 10 Å. Os átomos envolvidos na interação também são mostrados (MD1). . . . .	92
Tabela 6	– Suplementar. Descrição quântica da interação entre os resíduos do $\mu\text{OR}$ e a morfina em um raio de ligação de 10 Å. Os átomos envolvidos na interação também são mostrados (MD2). . . . .	93
Tabela 7	– Suplementar. Descrição quântica da interação entre os resíduos do $\mu\text{OR}$ e a morfina em um raio de ligação de 10 Å. Os átomos envolvidos na interação também são mostrados (MD3). . . . .	94
Tabela 8	– Suplementar. Descrição quântica da interação entre os resíduos do $\mu\text{OR}$ e o fentanil em um raio de ligação de 10 Å. Os átomos envolvidos na interação também são mostrados (MD1). . . . .	95
Tabela 9	– Suplementar. Descrição quântica da interação entre os resíduos do $\mu\text{OR}$ e o fentanil em um raio de ligação de 10 Å. Os átomos envolvidos na interação também são mostrados (MD2). . . . .	96
Tabela 10	– Suplementar. Descrição quântica da interação entre os resíduos do $\mu\text{OR}$ e o fentanil em um raio de ligação de 10 Å. Os átomos envolvidos na interação também são mostrados (MD3). . . . .	97



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AC	Adenilato ciclase
ACEMD	Acelerando a dinâmica biomolecular na escala de tempo de microssegundos
ALA	Alanina
ARG	Arginina
ASN	Asparagina
ASP	Ácido aspártico
cAMP	Adenosina monofosfato cíclico
CYS	Cisteína
DFT	Density Functional Theory (Teoria do Funcional da Densidade)
DM	Dinâmica molecular
ECLs	Alças extracelulares
FDA	Food and Drug Administration (Administração de Alimentos e Medicamentos)
FEN	Fentanil
GLN	Glutamina
GLU	Ácido glutâmico
GLY	Glicina
GPCRs	Receptores acoplados à proteína G
GTP	Guanosina trifosfato
HADDOCK	High Ambiguity Driven Biomolecular DOCKing (DOCKing biomolecular orientado por alta ambiguidade)
HIS	Histidina
ILE	Isoleucina
ICLs	Alças intracelulares
IM	Infarto do Miocárdio
LEU	Leucina
LYS	Lisina

MET	Metionina
MFCC	Molecular Fragmentation with Conjugate Caps (Fragmentação molecular com tampas conjugadas)
MOR	Morfina
$\mu$ OR	Receptor $\mu$ -Opioide
$\kappa$ OR	Receptor $\kappa$ -Opioide
$\delta$ OR	Receptor $\delta$ -Opioide
$\mu$ OR::FEN	Fentanil complexado com o receptor $\mu$ -opioide
$\mu$ OR::MOR	Morfina complexada com o receptor $\mu$ -opioide
NMR	Ressonância magnética nuclear
PDB	Protein Data Bank (Banco de Dados de Proteínas)
PHE	Fenilalanina
PKA	Proteína quinase A
POPC	Palmitoil-2-oleoil-sn-glicero-3-fosfocolina
PRO	Prolina
RMSD	Root Mean Square Deviation (Desvio quadrático médio da raiz)
RMSF	Root Mean Square Fluctuation (Flutuação quadrática média da raiz)
RCSB PDB	Research Collaboratory for Structural Bioinformatics Protein Data Bank (Colaboratório de Pesquisa em Bioinformática Estrutural Banco de Dados de Proteínas)
SCA	Síndrome coronariana aguda
SER	Serina
SNA	Sistema nervoso autônomo
SNC	Sistema Nervoso Central
SNP	Sistema nervoso periférico
SPC	Simple Point Charge (Carga de ponto simples)
THR	Treonina
TM	Transmembrana

TRP      Triptofano

TYR      Tirosina

VAL      Valina

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO . . . . .	20
2	METODOLOGIA . . . . .	27
2.1	Coleta e preparação dos complexos . . . . .	27
2.2	Docking molecular . . . . .	27
2.3	Dinâmica molecular . . . . .	28
2.4	Bioquímica Quântica . . . . .	30
2.5	Análise das interações não covalentes dos complexos $\mu\text{OR}::\text{MOR}$ e $\mu\text{OR}::\text{FEN}$ . . . . .	31
2.5.1	<i>Interações não covalentes</i> . . . . .	32
3	RESULTADOS . . . . .	35
3.1	Ancoragem molecular . . . . .	35
3.2	Dinâmica molecular . . . . .	39
3.2.1	<i>RMSD e RMSF dos complexos <math>\mu\text{OR}::\text{Morfina}</math> e <math>\mu\text{OR}::\text{Fentanil}</math></i> . . . . .	39
3.2.2	<i>Perfil dinâmico das ligações de hidrogênio nos complexos <math>\mu\text{OR}::\text{MOR}</math> e <math>\mu\text{OR}::\text{FEN}</math></i> . . . . .	42
3.3	Bioquímica quântica . . . . .	44
3.3.1	<i>Interações de energia do complexo <math>\mu\text{OR}::\text{MOR}</math></i> . . . . .	44
3.3.2	<i>Interações de energia no complexo <math>\mu\text{OR}::\text{FEN}</math></i> . . . . .	50
3.4	Interações de energia nos complexos $\mu\text{OR}::\text{MOR}$ e $\mu\text{OR}::\text{FEN}$ . . . . .	57
3.4.1	<i>Regiões do <math>\mu\text{OR}</math> com menores energias de interação</i> . . . . .	58
3.4.2	<i>Mapeamento das hélices da transmembrana de maior ativação dos complexos <math>\mu\text{OR}::\text{MOR}</math> e <math>\mu\text{OR}::\text{FEN}</math></i> . . . . .	62
3.4.3	<i>Energia de interação dos complexos <math>\mu\text{OR}::\text{MOR}</math> e <math>\mu\text{OR}::\text{FEN}</math></i> . . . . .	67
4	DISCUSSÃO . . . . .	70
5	CONCLUSÕES . . . . .	78
	REFERÊNCIAS . . . . .	79

**APÊNDICE A – DESCRIÇÃO QUÂNTICA DA INTERAÇÃO ENTRE OS RESÍDUOS DO  $\mu$ OR COM A MORFINA E OFENTANIL EM UM RAIOS DE LIGAÇÃO DE 10 Å. OS ÁTOMOS ENVOLVIDOS NA INTERAÇÃO DE LIGAÇÃO TAMBÉM SÃO MOSTRADOS, ALÉM DA DISTÂNCIA, ENERGIA DE INTERAÇÃO, CARGA E NÚMEROS DE ÁGUAS ..... 91**

## 1 INTRODUÇÃO

No ano de 1805, o notável pesquisador alemão Friedrich Sertürner fez uma descoberta importante na botânica ao identificar a morfina, um opioide da classe dos alcaloides que é obtido a partir da resina das sementes da papoula do ópio, *Papaver somniferum* (Zarin *et al.*, 2023; Manglik *et al.*, 2012). A morfina tem a capacidade de se ligar aos receptores opioides, demonstrando maior afinidade pelo receptor  $\mu$ - opioide ( $\mu$ OR) (Figura 2A) (Ricarte; Dalton; Giraldo, 2021; Daoud *et al.*, 2023). Esses receptores estão divididos em quatro tipos, a saber:  $\mu$  ( $\mu$ OR),  $\kappa$  ( $\kappa$ OR),  $\delta$  ( $\delta$ OR) e NOP (receptor de nociceptina/orfanina FQ) acoplados à proteína G. Dentre os quais, o  $\mu$ OR revelou-se ser bastante suscetível aos efeitos analgésicos da morfina (Zhuang *et al.*, 2022; Daibani; Che, 2022; Lamber, 2023).

O  $\mu$ OR desempenha um papel essencial na regulação de várias atividades fisiológicas no organismo, especialmente na mediação dos efeitos das endorfinas e encefalinas, que são neurotransmissores endógenos produzidos pelo próprio corpo (Moini; Gutierrez; Avgeropoulos, 2023). Com relação a estrutura, os receptores na membrana acoplados à proteína G (GPCRs) possuem sete hélices transmembranares (TM) e interagem com proteínas G intracelulares (Figura 2A). Alguns desses receptores são conhecidos por sua capacidade de ativar a enzima adenilato ciclase (AC), que aumenta a produção de adenosina monofosfato cíclico (cAMP) (Zhuang *et al.*, 2022). O cAMP ativa a proteína quinase A (PKA), uma família de enzimas que fosforilam resíduos de serina/treonina em diversas proteínas, como canais iônicos, enzimas, resultando na ativação ou inibição dessas moléculas (Al-Hasani; Bruchas, 2011; Che *et al.*, 2021; Huang *et al.*, 2015; Koehl *et al.*, 2018; Dhaliwal; Gupta, 2023; Serohijos *et al.*, 2011; Convertino *et al.*, 2015). A ativação de cAMP é regulada negativamente pela proteína  $G_i$ , que se acopla ao receptor específico. Quando um agonista opioide (endógeno ou exógeno) se liga ao domínio extracelular N-terminal do receptor, a subunidade  $G_{\alpha i/o}$  no lado intracelular C-terminal do receptor se associa à guanosina trifosfato (GTP), inibindo a AC e, conseqüentemente, a produção de cAMP (Al-Hasani; Bruchas, 2011; Lešnik *et al.*, 2021). Os opioides podem ter efeitos inibitórios e excitatórios nas sinapses dos neurônios, tanto pré-sinápticas quanto pós-sinápticas. Eles inibem a liberação de neurotransmissores, como glutamato e substância P, ao reduzir a entrada de cálcio nos terminais nervosos e hiperpolarizam os neurônios pós-sinápticos, aumentando a saída de potássio (Yudin; Rohacs, 2018; Dhaliwal; Gupta, 2023; Reeves *et al.*, 2022; Al-Hasani; Bruchas, 2011; Lešnik *et al.*, 2021).

Por sua vez, a membrana celular, uma estrutura que envolve todas as células, é

composta principalmente por fosfolipídios, proteínas e colesterol (Carlson, 2018). Os fosfolipídios formam uma bicamada, com suas caudas hidrofóbicas, compostas por ácidos graxos, voltadas para o interior da membrana e sua fluidez é influenciada pela natureza dos ácidos graxos (saturados ou insaturados) (Carlson, 2018). Essa fluidez pode influenciar a difusão dos opioides até seus receptores, modulando a intensidade e a duração de seus efeitos. Além disso, a ligação dos opioides aos seus receptores na membrana é afetada pela composição lipídica, pela presença de microdomínios específicos e pelas interações entre os lipídios e as proteínas receptoras.

Desde 2012, inúmeras estruturas cristalográficas do  $\mu$ OR têm sido resolvidas (Li *et al.*, 2023). A primeira foi descrita por Manglik e colaboradores (2012), que estudaram a estrutura cristalina do  $\mu$ OR ligado a um antagonista de morfina, revelando a organização das hélices transmembrana do receptor. Posteriormente, Huang e colaboradores (2015) resolveram a estrutura cristalina do  $\mu$ OR ligado a um agonista e a um nanocorpo mimético da proteína G (Zhuang *et al.*, 2022). Finalmente, Koehl e colaboradores (2018) apresentaram a estrutura do  $\mu$ OR ligado ao peptídeo agonista DAMGO em complexo com a proteína  $G_{\alpha\beta\gamma}$  por meio de microscopia crio-eletrônica agregando a literatura novas informações a respeito do mecanismo de ligação intracelular ao  $\mu$ OR (Li *et al.*, 2023). Recentemente, Vo e colaboradores (2021) esclareceram o mecanismo de ligação do fentanil ao  $\mu$ OR por meio da análise de uma estrutura cristalina do receptor  $\mu$ -opioide ligada à morfina. Ademais, Zhuang e colaboradores (2022) por meio de crio-microscopia eletrônica relataram a estrutura dos complexos  $\mu$ OR- $G_i$  com fentanil e morfina e além disso, relataram que esses opioides se ligam ao sítio ortostérico do  $\mu$ OR (Zhuang *et al.*, 2022).

Neste contexto, a utilização da morfina (Figura 2B) sob anuência da FDA (Administração de Alimentos e Medicamentos) inclui casos de dor moderada a grave, de grau agudo crônico, sendo bem administrada em casos terminais e no tratamento contínuo ao câncer (Li *et al.*, 2023; Hosseinejad *et al.*, 2019; Dalal; Bruera, 2019). Convém destacar que a FDA é responsável por proteger a saúde pública, garantindo a segurança e qualidade de medicamentos, dispositivos médicos, alimentos, cosméticos e produtos que emitem radiação (FDA, 2024).

Além disso, a morfina é usada para sedação em pequenos procedimentos, sendo combinada com uma dose baixa de lorazepam e seu efeito na atenuação da dor ocorre devido a uma redução da ativação do sistema nervoso autônomo (SNA) (Murphy; Bechmann; Barrett, 2024). A morfina é considerada um analgésico opioide clássico e é referência para comparação com outros analgésicos, devido à sua afinidade pelos receptores opioides  $\delta$ ,  $\kappa$  e  $\mu$ -opioides

(Zarin *et al.*, 2023).

Como já mencionado, esta droga exerce a maioria de seus efeitos analgésicos ao se ligar ao receptor  $\mu$ -opioide tanto no sistema nervoso central (SNC) quanto no sistema nervoso periférico (SNP) (Zarin *et al.*, 2023; Patocka *et al.*, 2024). Não obstante, certos fatores indicam o potencial letal dessa molécula, uma vez que sua atuação interfere em sintomas associados à depressão do SNC (Kandasamy *et al.*, 2021). Certa ação interfere nos processos de transmissão e modulação de sinais neurais, importante na reação a estímulo de perigo.

Em contrapartida, o fentanil é um potente opioide sintético (Figura 2C), proporciona uma analgesia muito mais intensa, ativando o receptor  $\mu$ -opioide ( $\mu$ OR) com uma potência de 50 a 100 vezes maior do que a da morfina (Zhuang *et al.*, 2022; Mahinthichaichan *et al.*, 2023; Ricarte; Dalton; Giraldo, 2021; Li *et al.*, 2023; Hill *et al.*, 2020; Arita *et al.*, 2024). Este agonista foi sintetizado inicialmente pela empresa Janssen Pharmaceuticals no ano de 1959 e sua capacidade de fornecer estabilidade cardiovascular e inibir a resposta ao estresse provocada por estímulos cirúrgicos o tornou essencial na anestesia cardíaca. Portanto, é indicado para casos de analgesia pré-operatória, anestesia regional, anestesia geral e como complemento e potencializador de outras técnicas anestésicas, entre outras aplicações (Comer; Cahill, 2019; Patocka *et al.*, 2024; Arita *et al.*, 2024). Seus efeitos colaterais incluem constipação, redução da capacidade respiratória, náusea, dependência entre outros sintomas, inclusive letais (Conibear; Kelly, 2019; Ronsisvalle *et al.*, 2020; Piekielna-Ciesielska *et al.*, 2020).

O uso indiscriminado de opioides, especialmente o fentanil e seus análogos, continua sendo o principal problema da crise dos opiáceos na América do Norte (Zhuang *et al.*, 2022; Che *et al.*, 2021; Skolnick, 2018). Dados de 2021 demonstram que grande parcela das mortes por overdose resultou da ação de opioides sintéticos, a exemplo do fentanil e seus derivados, acetil fentanil, carfentanil e lofentanil ainda mais potentes (Zhuang *et al.*, 2022; Mattson *et al.*, 2021; Ringuette *et al.*, 2020; Lešnik *et al.*, 2023; Patocka *et al.*, 2024). No referido ano, o número de vítimas de overdose nos Estados Unidos atingiu a alarmante soma de mais de 100.000 óbitos (Mattson *et al.*, 2021; Lu *et al.*, 2023; Mahinthichaichan *et al.*, 2023; Arita *et al.*, 2024).

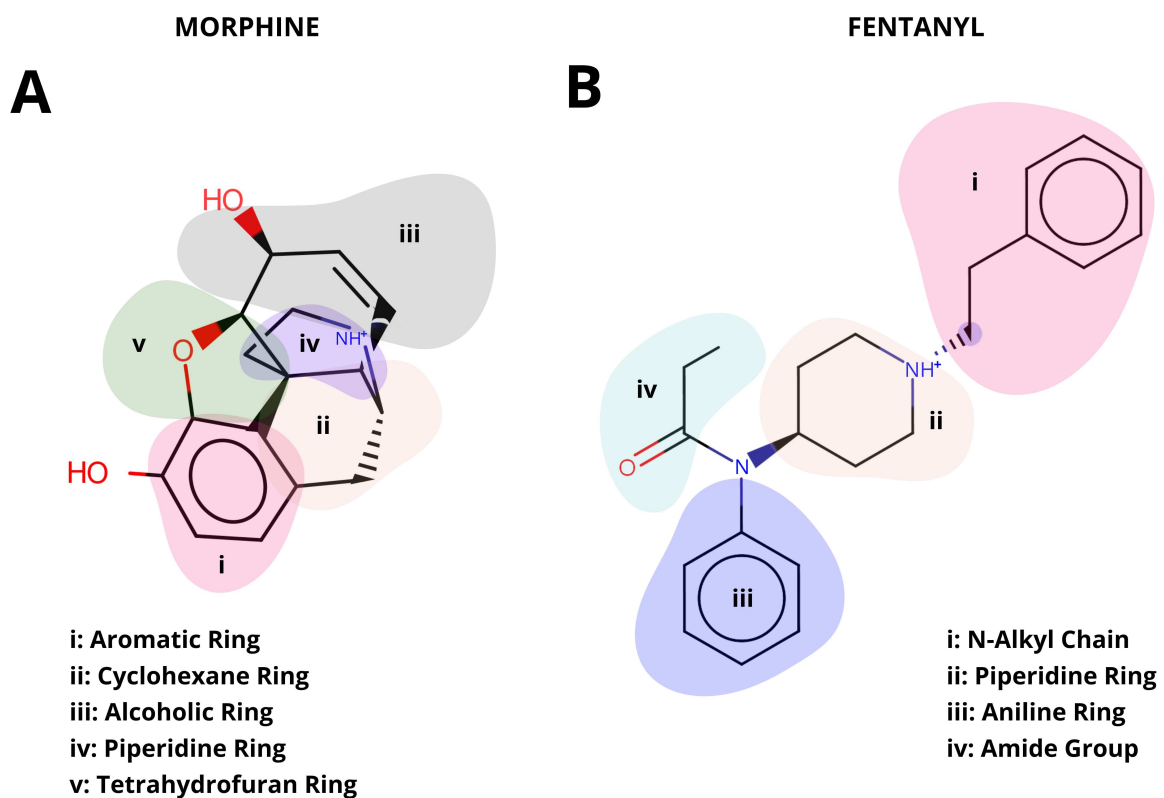
A administração de naloxona é amplamente utilizada para reverter overdoses de opioides devido à sua eficácia em tratar a depressão respiratória induzida por opioides e restaurar a respiração normal em questão de minutos. Estudos mostram que este antagonista pode ser administrado de várias formas, incluindo intravenosa, intramuscular e intranasal, sendo a última uma das mais avançadas e licenciadas nos EUA pela FDA para uso em spray nasal concentrado



(Strang *et al.*, 2016; Quinn *et al.*, 2024; Rock *et al.*, 2024; Knudsen *et al.*, 2024). Em muitos casos, pode ser necessário administrar múltiplas doses deste medicamento para alcançar a reversão completa da overdose devido à alta potência desses opioides (Abdelal *et al.*, 2022; Aschenbrenner, 2022).

No intuito de compreender mais sobre o modo de ação desses opiáceos aos receptores, muitos estudos e diversas estruturas cristalográficas dos receptores  $\mu$ -opioides têm sido resolvidas e alocadas no RCSB Protein Data Bank (PDB) (Berman *et al.*, 2000) dentre as quais, as estruturas tridimensionais dos complexos receptor  $\mu$ -opioide ligado a morfina e ao fentanil presentes nos cristais depositados no PDB com os identificadores 8EF6 e 8EF5, respectivamente (Zhuang *et al.*, 2022).

Figura 1 – Representação bidimensional dos dois principais fármacos antinociceptivos. (A) Estrutura química da molécula de morfina visualizada em 2D. (B) Estrutura química da molécula do fentanil apresentada em 2D.

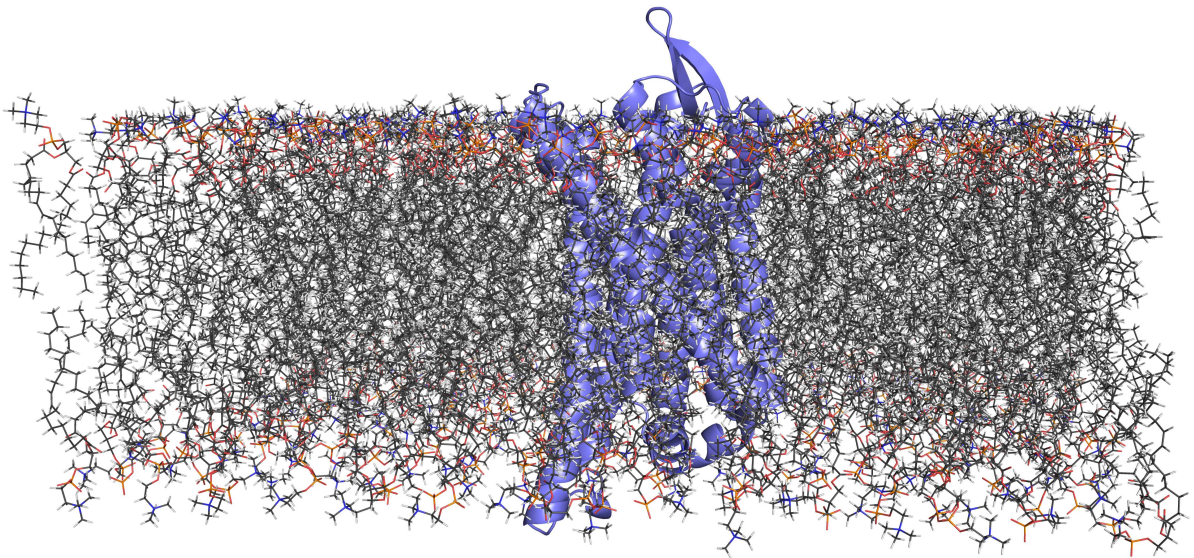


Fonte: Elaborada pelo autor.

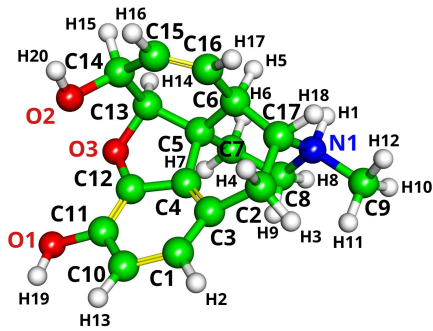
Figura 2 – Representação tridimensional do receptor  $\mu$ -opioide ( $\mu$ OR) na bicamada fosfolipídica (POPC) e de dois dos principais fármacos antinociceptivos. (A) Visualização do  $\mu$ OR na membrana. (B) Molécula da morfina com a representação dos respectivos átomos e suas ligações. (C) Molécula do fentanil com a representação dos respectivos átomos e suas ligações.

**A**

**$\mu$ -OPIOID RECEPTOR**



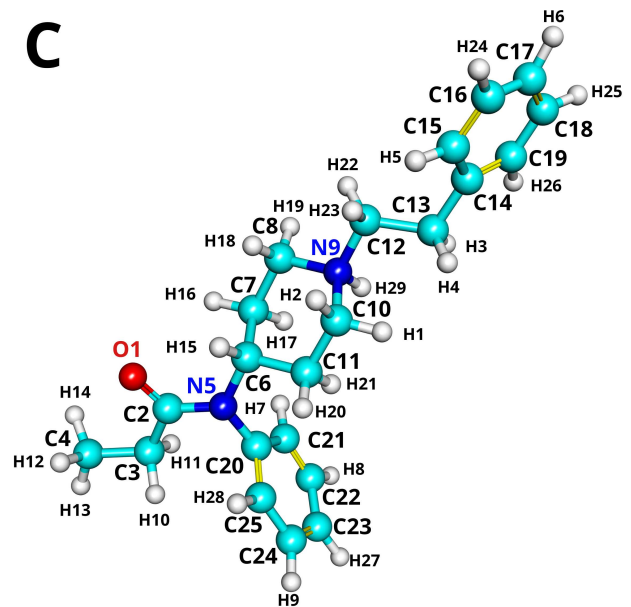
**B**



**MORPHINE**

Fonte: Elaborada pelo autor.

**C**



**FENTANYL**

Considerando a proeminência clínica dos opioides e a exigência por fármacos que apresentem eficiência analgésica aliada a poucos efeitos colaterais (Lipiníski *et al.*, 2019), este trabalho fez uso de ferramentas de biologia computacional, dinâmica molecular e bioquímica quântica para estudar, a nível molecular o modo de interação entre dois opioides importantes, morfina (MOR) e fentanil (FEN) ao  $\mu$ OR (Figura 1 e 2).

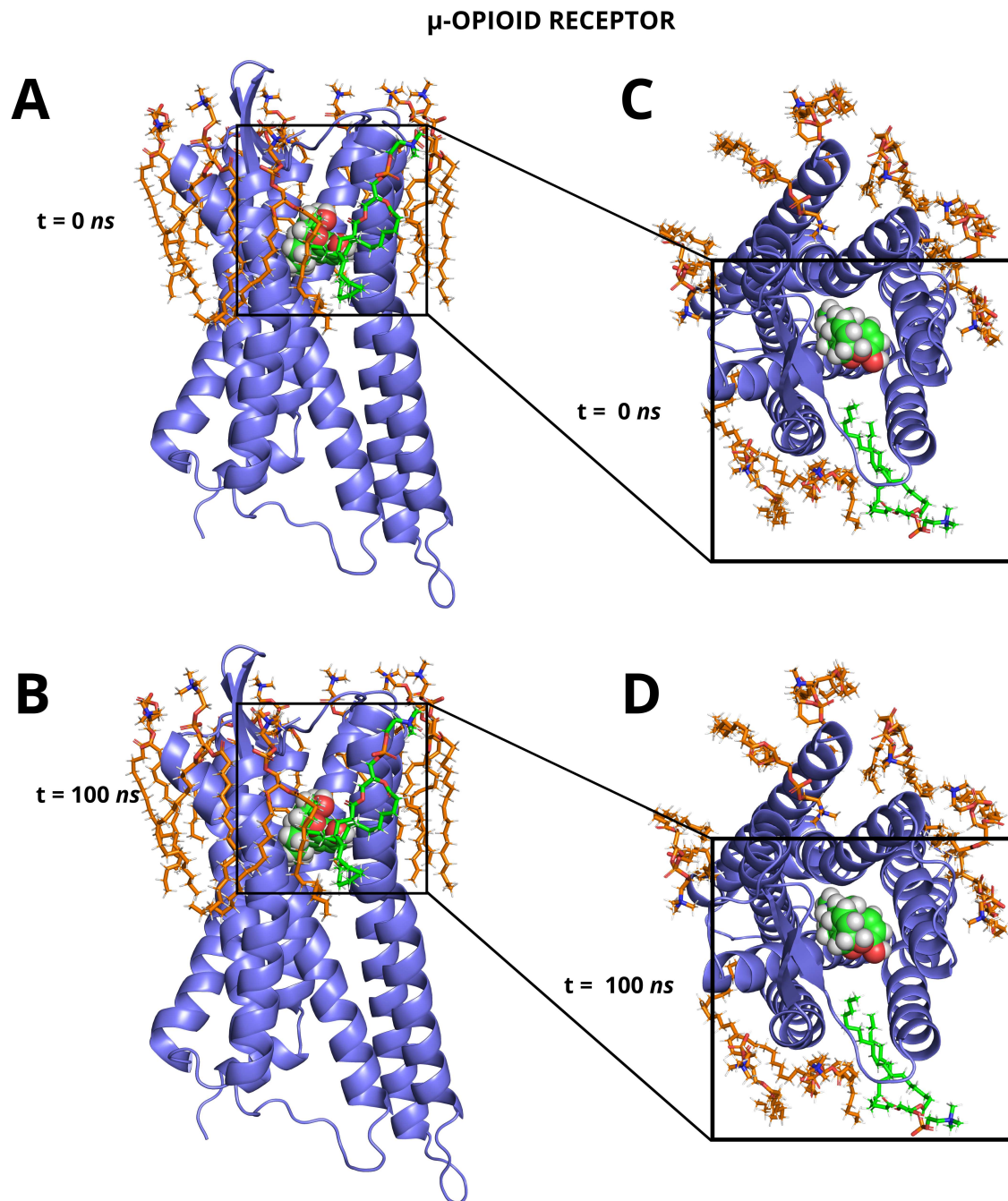
Com respeito à biologia computacional, foram utilizadas técnicas como dinâmica molecular (DM), ancoragem molecular, teoria do funcional da densidade (DFT) e outras ferramentas *in silico*. Em conjunto, essas técnicas têm mostrado grande potencial para uma compreensão mais aprofundada dos mecanismos de ativação e sinalização do  $\mu$ OR iniciados a partir das estruturas cristalográficas deste receptor (Kapoor *et al.*, 2017; Lipiníski *et al.*, 2019; Koehl *et al.*, 2018; Waal *et al.*, 2020; Zhuang *et al.*, 2022). Ademais, o uso de bioquímica quântica fundamentada na DFT, tem sido aplicada para estudar biomoléculas e descobrir novas drogas (Amaral *et al.*, 2020; Souza *et al.*, 2022; Tavares *et al.*, 2018).

Finalmente, no escopo deste estudo, objetiva-se investigar as interações entre os opioides mencionados acima e o receptor  $\mu$ -opioide ( $\mu$ OR), empregando uma abordagem multidisciplinar que combina os procedimentos citados, com o intuito de avaliar e comparar a estabilidade presente nas energias de interação dos complexos  $\mu$ OR::MOR e  $\mu$ OR::FEN. Através do presente estudo, foi possível descrever as hélices transmembranas (TM) e alças extracelulares (ECLs) do  $\mu$ OR que apresentam maior energia de interação com os ligantes, MOR e FEN, mediante a análise das energias de interação dos resíduos de aminoácidos presentes no receptor, obtidas pelos cálculos quânticos da DFT. Também, detalhou-se a contribuição energética, uma vez que quanto menor é a energia de interação, mais forte é a interação entre os resíduos específicos do  $\mu$ OR e os ligantes. Além disso, especificamos as interações moleculares não-covalentes formadas nos sistemas supracitados como as ligações de hidrogênio, van der Waals, interações eletrostáticas do tipo carga atrativa, ponte salina e ainda, interações hidrofóbicas do tipo alquil,  $\pi$ -alquil, empilhamento  $\pi$ - $\pi$ ,  $\pi$  - cátion entre outras.

Consequentemente, as informações obtidas por meio dessa abordagem podem ser úteis no desenvolvimento de novos opioides. Portanto, este estudo propõe-se a contribuir com a literatura existente sobre o assunto, oferecendo perspectivas que podem colaborar não apenas para a compreensão dos mecanismos de ação dos opioides, mas também para o desenvolvimento de novos fármacos com maior afinidade e seletividade pelo receptor  $\mu$ -opioide. Os resultados obtidos podem abrir novas perspectivas na pesquisa farmacêutica, fornecendo informações para

o desenvolvimento de medicamentos mais eficazes e seguros no tratamento da dor e de outras condições médicas.

Figura 3 – Exposição tridimensional do  $\mu$ OR na bicamada fosfolipídica POPC destacando os fosfolípidios que estão em interação próxima com o  $\mu$ OR. (A) e (C) Ilustração do  $\mu$ OR na membrana no tempo  $t = 0ns$ . (B) e (D) Visualização do  $\mu$ OR na membrana no tempo  $t = 100ns$ .



Fonte: Elaborada pelo autor.

## 2 METODOLOGIA

### 2.1 Coleta e preparação dos complexos

A obtenção das estruturas dos complexos  $\mu\text{OR}::\text{MOR}$  e  $\mu\text{OR}::\text{FEN}$  usados no re-docking e nas etapas seguintes (dinâmica e MFCC) foi realizada consultando o banco de dados RCSB Protein Data Bank (PDB), possuindo códigos de acesso 8EF6 com resolução de 3,2Å e 8EF5 com resolução de 3,30 Å, respectivamente (Berman *et al.*, 2000; Zhuang *et al.*, 2022). Pelo software Discovery Studio Visualizer 2020 (BIOVIA, Dassault Systèmes) procedeu-se à preparação dessas estruturas, removendo moléculas de água, ligantes e cadeias proteicas que não são de interesse no nosso estudo. Recorreu-se ao servidor web Protein Prepare para ajustar os estados de protonação das cadeias laterais dos resíduos, garantindo sua conformação adequada ao pH 7,4 (Rosell; Giorgino; Fabritiis, 2017). Adicionalmente, os estados de protonação dos ligantes em pH 7,4 foram analisados no MarvinSketch (Chemaxon) e otimizados geometricamente também no Discovery Studio Visualizer 2020 (BIOVIA, Dassault Systèmes).

### 2.2 Docking molecular

Foi realizado um re-docking das estruturas da morfina e do fentanil, presentes nos cristais PDB IDs: 8EF6 e 8EF5, com o objetivo comparar os resultados obtidos através dos programas AutoDock Vina 1.1.2 (Eberhardt *et al.*, 2021; Trott; Olson, 2010) e Haddock 2.4 (Honorato *et al.*, 2021; Honorato *et al.*, 2024), a fim de determinar qual das ferramentas apresentaria resultados mais próximos ao modo de ligação experimentalmente definido. Adotamos duas metodologias de ancoragem, conforme a tendência na literatura de empregar múltiplas abordagens em estudos desse tipo, o que pode proporcionar maior precisão nos resultados (Huang *et al.*, 2023; Sullivan; Martin, 2008; Houston; Walkinshaw, 2013). Esse procedimento foi realizado, tendo em vista que estudos futuros podem utilizar essas informações para escolher qual método de ancoragem é mais adequado para descrever o modo de ligação de outros ligantes com afinidade pelo  $\mu\text{OR}$ , que ainda não possuam dados cristalográficos. As estruturas das biomoléculas, previamente preparadas, foram empregadas como entrada nos programas, utilizando a interface gráfica do AutoDockTools 1.5.7 (Morris *et al.*, 2009) para a finalização da preparação e execução do procedimento de Docking Molecular.

Adicionalmente, o AutoDockTools 1.5.7 foi utilizado para a remoção dos hidrogênios não polares dos ligantes, morfina e fentanil, assim como para a adição de cargas parciais utilizando o método Gasteiger. Após essa etapa de preparação do receptor  $\mu$ -opioide e dos ligantes, essas estruturas foram utilizadas como arquivos de entrada para a execução do Docking Molecular utilizando o AutoDock Vina 1.1.2 e Haddock 2.4. Nesse contexto, a estrutura do  $\mu$ OR foi mantida fixa, enquanto os ligantes foram considerados flexíveis durante os cálculos. Essas etapas foram executadas no intuito de identificar quais os principais clusters de ligação dos ligantes no receptor; relevantes para o procedimento de seleção dos principais sítios do  $\mu$ OR, tendo como parâmetro os valores de RMSD.

O presente estudo também empregou o software AutodockTools 1.5.7 como ferramenta primária para a construção da caixa de ancoragem. As dimensões das caixas usadas para os complexos  $\mu$ OR::Morfina e  $\mu$ OR::fentanil foram  $112 \text{ \AA} \times 112 \text{ \AA} \times 112 \text{ \AA}$ , ocupando seus respectivos sítios de ligação. Através da especificação desses parâmetros, o software estabelece uma representação tridimensional da região alvo, fornecendo assim um ambiente virtual para avaliar as interações moleculares durante este processo.

### 2.3 Dinâmica molecular

As estruturas dos complexos  $\mu$ OR::MOR e  $\mu$ OR::FEN anteriormente preparadas foram utilizadas para construir dois sistemas de simulação de dinâmica molecular (DM). O servidor CHARMM-GUI foi utilizado para inserir cada uma dessas estruturas em uma membrana de palmitoil-2-oleoil-sn-glicero-3-fosfolipina (POPC), solvatada com água TIP3P (potencial intermolecular transferível 3P). Em resumo, POPC é um fosfolípido amplamente estudado em membranas lipídicas devido às suas propriedades estruturais e funcionais, sendo utilizado para investigar interações lipídio-proteína, efeitos de oxidação, dinâmica de membranas e simulações moleculares (Junqueira *et al.*, 2021). Após isso, as concentrações de  $Na^+$  e  $Cl^-$  foram ajustadas para  $0,15 M$  no intuito de neutralizar e fornecer condições de caráter fisiológico ao sistema (Zhuang *et al.*, 2022). Por conseguinte, os complexos foram minimizados utilizando o algoritmo de descida mais íngreme até que a força máxima fosse menor que  $10 kJ \cdot mol^{-1}$ .

Posteriormente, foram efetuados 500000 passos de simulações de equilíbrio de  $1 ns$  para os complexos já mencionados visando alcançar a temperatura ( $300K$ ) (ensemble NVT) e a pressão ( $1 bar$ ) (ensemble NPT) adequadas para cada sistema usando o termóstato V-Rescale (Berendsen *et al.*, 1984) e o barostato de Parrinello-Rahman com uma compressibilidade de

$\beta = 4,5 \cdot 10^{-5} \text{bar}^{-1}$  (Parrinello; Rahman, 1980). O GROMACS 2023, em conjunto com o servidor CGenFF, foi operado para atribuir parâmetros de força aos átomos presentes nas moléculas menores (MOR e FEN), garantindo uma representação de suas interações durante as simulações de DM (Lee *et al.*, 2016; Vanommeslaeghe *et al.*, 2010). Para controlar as interações eletrostáticas de longo alcance, utilizou-se o método Particle Mesh Ewald (PME). A integração das equações diferenciais de movimento foi realizada usando o método leapfrog. Além disso, foi adotado um esquema de intervalos de 2 *fs*. Finalmente, foram realizadas simulações independentes de minimização de energia, equilíbrio e dinâmica molecular (DM) em triplicata dos dois sistemas por meio do software GROMACS 2023, com duração de 100 *ns* (Lee *et al.*, 2016; Vanommeslaeghe *et al.*, 2010). Para esse fim, o campo de força CHARMM36 (CHARMM Force Field Files) foi empregado para definir a topologia das biomoléculas e guiar as dinâmicas moleculares executadas no software (Huang; MacKerell, 2013).

A estabilidade de cada complexo ao longo da dinâmica foi avaliada com o uso do Desvio Quadrático Médio da Raiz (RMSD) (Sargsyan; Grauffel; Lim, 2017). Convém ressaltar a relevância do RMSD para examinar os movimentos temporais de uma estrutura e avaliar se esta mantém sua estabilidade durante o período das simulações ou se está se afastando das coordenadas iniciais (Martínez, 2015; Sargsyan; Grauffel; Lim, 2017; Bhola *et al.*, 2023; Bell; Zhang, 2019).

O RMSD é determinado pela seguinte equação:

$$RMSD = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \delta_i^2} \quad (2.1)$$

Na equação anterior,  $\delta_i$  representa a distância entre o átomo  $i$  nas duas estruturas, enquanto  $N$  corresponde ao número total de átomos equivalentes. Como o cálculo do RMSD exige o mesmo número de átomos em ambas as estruturas, ele é comumente realizado utilizando apenas os átomos  $C\alpha$  ou os átomos pesados da cadeia principal de cada resíduo de aminoácido (Sargsyan; Grauffel; Lim, 2017).

Ademais, com o objetivo de examinar as flutuações estruturais dos complexos mencionados, aplicou-se a Flutuação Quadrática Média da Raiz (RMSF). Certa ação, auxilia na compreensão da flexibilidade e estabilidade dessas macromoléculas em um contexto dinâmico. A partir desses resultados, é possível identificar as regiões do receptor que apresentam maior ou menor flexibilidade, indicando potenciais sítios que se tornam rígidos ou flexíveis a depender do ligante. Picos elevados de RMSF podem sugerir regiões mais flexíveis, enquanto mais baixos

podem indicar áreas mais rígidas (Wang *et al.*, 2024; Serohijos *et al.*, 2011). Este método indica o deslocamento médio de um átomo específico ou grupo de átomos em relação à estrutura de referência e é calculado pela média do número de átomos (Martínez, 2015; Serohijos *et al.*, 2011)

Com isso, o RMSF, pode ser calculado por:

$$RMSF = \sqrt{\frac{1}{T} \sum_{t=1}^T [x(t) - \bar{x}]^2} \quad (2.2)$$

onde  $x$  representa a posição em tempo real dos átomos ou resíduos,  $t$  representa o tempo e  $\bar{x}$  representa a posição média durante um período de tempo  $T$  (Song *et al.*, 2024).

## 2.4 Bioquímica Quântica

A energia de interação entre os ligantes, morfina e fentanil e os resíduos do  $\mu$ OR foi obtida pela Teoria do Funcional da Densidade (DFT) (Jones, 2015; Kryachko; Ludeña, 2014). Para isso, foi adotado o método de Fracionamento Molecular com Capas Conjugados (MFCC) para obtenção destes valores (Zhang; Zhang, 2003; Chen; Zhang; Zhang, 2005). Com a finalidade de reduzir o número de resíduos de interesse sem prejudicar a qualidade dos dados, considerou-se as interações de energia dentro de 10 Å dos ligantes, além das moléculas de água dentro de 2,5 Å de cada resíduo do  $\mu$ OR e do ligante (FRANÇA *et al.*, 2022). Com isso, a energia de interação  $E_I$  entre os resíduos de interesse ( $R_i$ ) do  $\mu$ OR e os ligantes, morfina e fentanil, resumidamente definidos como (*Lig*), dentro desse raio foram calculadas pela equação (Amaral *et al.*, 2024):

$$E_I(Lig - R_i) = E(Lig + C_{i-1} \cdot R_i \cdot C_{i+1}) - E(C_{i-1} \cdot R_i \cdot C_{i+1}) - E(Lig + C_{i-1} \cdot C_{i+1}) + E(C_{i-1} \cdot C_{i+1}) \quad (2.3)$$

Na equação anterior, o primeiro termo definido como  $E(Lig + C_{i-1} \cdot R_i \cdot C_{i+1})$  é a energia total de interação entre o ligante e o resíduo com “caps”. Já o segundo, representado por  $E(C_{i-1} \cdot R_i \cdot C_{i+1})$  é a energia total do resíduo com caps. Por sua vez, o terceiro termo,  $E(Lig + C_{i-1} \cdot C_{i+1})$  é a energia total do ligante com os caps sem o resíduo de interesse. Nas expressões anteriores,  $C_{i-1}$  e  $C_{i+1}$  representam os caps formados pelos resíduos vizinhos na cadeia peptídica. Finalmente,  $E(C_{i-1} \cdot C_{i+1})$  é a energia total apenas para os caps. Desse modo,



as ligações pendentes devido à fragmentação dos caps são preenchidas com átomos de hidrogênio. Após esse procedimento, os arquivos de saída provenientes do MFCC foram selecionados e tratados para serem usados como entrada para os cálculos da teoria do funcional da densidade (DFT) (Amaral *et al.*, 2024). As coordenadas atômicas resultantes de cada dinâmica molecular foram inseridas no esquema MFCC supracitado e, depois, submetidas aos cálculos DFT pelo código DMOL3 (Delley, 2000).

Em conjunto aos procedimentos anteriores, várias bases da Double Numerical plus Polarization (DNP) foram empregadas para expandir os orbitais de Kohn-Sham de todos os elétrons (França *et al.*, 2022). Para avaliar as energias eletrônicas, a função de correlação de troca de Perdew-Burke-Ernzerhof (PBE) dentro da Aproximação de Gradiente Generalizado (GGA) (Perdew; Burke; Ernzerhof, 1996) e o esquema de correção de dispersão Tkatchenko-Scheffler (GGA+TS) (Tkatchenko; Scheffler, 2009) foram selecionados. O raio de corte orbital foi definido como 4 Å, e o limiar de convergência do campo autoconsistente (SCF) foi calibrado para  $10^{-6}$  Ha (Amaral *et al.*, 2024). As águas explícitas até 2,5 Å foram consideradas no cálculo DFT e após esse limiar foram consideradas usando o modelo de solvatação COSMO (Klmat; Schüürmann, 1993). Além disso, a constante dielétrica usada na execução dos cálculos quânticos foi  $\epsilon = 40$  com base em trabalhos anteriores do Grupo de Simulações *Ab Initio* de Moléculas, Biomoléculas e Nanoestruturas que indicaram esse valor como adequado para sistemas biológicos (Solis-Calero *et al.*, 2018; Morais *et al.*, 2020).

## 2.5 Análise das interações não covalentes dos complexos $\mu\text{OR}::\text{MOR}$ e $\mu\text{OR}::\text{FEN}$

O software Discovery Studio 2020 foi utilizado para realizar a análise das interações existentes nos complexos  $\mu\text{OR}::\text{MOR}$  e  $\mu\text{OR}::\text{FEN}$  providentes dos procedimentos anteriores. Doravante, por meio dessa ferramenta foi possível gerar os esquemas de interação 2D. Como base para definir as ligações de hidrogênio, baseou-se nos ângulos e distâncias formados pelos átomos seguintes: hidrogênio (H), doador de hidrogênio (D), receptor de hidrogênio (A), átomo ligado ao doador (X) e átomo ligado ao receptor (Y). Deste modo, o critério de ângulo e distância definido foi entre  $0^\circ$  e  $180^\circ$  e 3,5 Å, respectivamente para as relações angulares: D-H-A, X-D-A, H-A-Y, D-A-Y. Em complemento, no intuito de determinar as interações do tipo  $\pi$ -enxofre, inicialmente, considerou-se os átomos de enxofre que não participavam das interações  $\pi$ -doador, posteriormente, a máxima distância entre o átomo de enxofre e o centroide deve ser igual a 6,0 Å e o ângulo estabelecido entre o plano do anel e o átomo de enxofre deve estar perto do extremo

de corte de borda  $\pi$ -enxofre ( $70^\circ$  por definição). Ademais, as interações hidrofóbicas do tipo alquil foram definidas quando os átomos não estavam adjacentes a concentrações de carga e os centroides dos grupos estavam a uma distância específica de  $5,5 \text{ \AA}$  para o centroide alquil e possuíam um par de átomos com o mesmo átomo  $\pi - \pi$  mais aproximado. Por último, as interações hidrofóbicas  $\pi$ -alquil existiam uma vez que a distância entre um anel  $\pi$  e um grupo alquil era de no máximo  $5,5 \text{ \AA}$  (Amaral *et al.*, 2024). Ainda, para construir as figuras 3D e com isso analisar as interações presentes nos sistemas  $\mu\text{OR}::\text{MOR}$  e  $\mu\text{OR}::\text{FEN}$  utilizou-se PyMOL v. 1.3.

### 2.5.1 Interações não covalentes

Com relação às interações, como as de Van der Waals, trata-se de forças intermoleculares fracas que ocorrem entre moléculas ou átomos muito próximos. Surgem devido a flutuações temporárias na distribuição dos elétrons, o que gera dipolos instantâneos que se atraem mutuamente (Cherepanov; Kalugina; Buldakov, 2017; Atkins; Paula; Keeler, 2023; Durkee, 2008). Existem três tipos principais de forças de Van der Waals. A primeira é a força de Dispersão de London, que são as mais fracas e ocorrem devido a flutuações temporárias na densidade eletrônica, resultando na formação de dipolos instantâneos (Comyn, 2006). Em segundo, vem as interações Dipolo-Dipolo que ocorrem entre moléculas com dipolos permanentes, onde a extremidade positiva de uma molécula é atraída pela extremidade negativa de outra (Singh, 2014). Finalmente, em terceiro, temos as interações Dipolo-Dipolo Induzido que acontecem quando uma molécula polar induz um dipolo em uma molécula apolar, perturbando sua nuvem eletrônica (Durkee, 2008).

A dispersão de London, pode ser descrita pela fórmula de London para a energia de interação  $V$ :

$$V = -\frac{C}{r^6}, \quad (2.4)$$

onde o coeficiente  $C$  é dado por:

$$C = \frac{2}{3} \frac{\alpha'_1 \alpha'_2 I_1 I_2}{I_1 + I_2}. \quad (2.5)$$

Nesta fórmula,  $\alpha'_1$  e  $\alpha'_2$  representam os volumes de polarizabilidade das moléculas 1 e 2, respectivamente;  $I_1$  e  $I_2$  são as energias de ionização das moléculas 1 e 2, respectivamente, e

$r$  é a distância entre as moléculas. Esta interação, descrita pela fórmula de London, é geralmente o termo dominante nas forças intermoleculares, exceto na presença de ligações de hidrogênio (Goerigk, 2017).

Por sua vez, as interações hidrofóbicas ocorrem quando moléculas não polares e hidrofóbicas tendem a se agrupar, afastando-se das moléculas de água em um ambiente polar (Wang; Liu; Zhang, 2024; Ben-Amotz, 2015). De modo consistente, essas interações ocorrem porque as substâncias não polares tendem a minimizar sua exposição à água, resultando em sua agregação. Esse fenômeno é crucial em vários processos biológicos, incluindo o dobramento de proteínas, a formação de membranas e o reconhecimento molecular (Zhou; Pang, 2018). Além disso, as interações hidrofóbicas desempenham um papel essencial na estabilidade e funcionalidade das macromoléculas biológicas. Em proteínas, por exemplo, os resíduos de aminoácidos hidrofóbicos tendem a se agrupar no interior da estrutura proteica, longe do ambiente aquoso, o que contribui para a manutenção de sua forma tridimensional. Similarmente, nas membranas celulares, as caudas hidrofóbicas dos fosfolipídios orientam-se para o interior, longe da água, formando uma bicamada que é crucial para a integridade e função da membrana (Zhou; Pang, 2018).

Convém ressaltar que as interações entre partículas são frequentemente modeladas utilizando potenciais clássicos. Por exemplo, o potencial de Lennard-Jones é amplamente utilizado para descrever forças de Van der Waals, enquanto o potencial de Coulomb é aplicado para interações eletrostáticas (Wang *et al.*, 2020). Esses potenciais, baseados em princípios da física clássica, fornecem uma descrição aproximada das forças que atuam entre as partículas (Atkins; Paula; Keeler, 2023; Chang, 2005).

O potencial de Lennard-Jones é expresso por:

$$V(r) = 4\epsilon \left[ \left( \frac{\sigma}{r} \right)^{12} - \left( \frac{\sigma}{r} \right)^6 \right] \quad (2.6)$$

Onde  $V(r)$  representa o potencial intermolecular entre dois átomos ou moléculas;  $\epsilon$  é a profundidade do poço de potencial, que mede a intensidade da atração entre as partículas; o parâmetro  $\sigma$  refere-se à distância na qual o potencial entre as partículas é zero, fornecendo uma medida de quão próximas duas partículas não ligadas podem chegar e é conhecido como o raio de van der Waals, sendo equivalente à metade da distância entre duas partículas quando não há ligação química entre elas. Por fim,  $r$  é a distância de separação entre as duas partículas, medida do centro de uma partícula ao centro da outra (Sakurai; Napolitano, 2020; Atkins; Paula; Keeler,

2023; Chang, 2005; Kramers, 2018; Pileio, 2024; Rajasekar; Velusamy, 2022; Rae; Napolitano, 2015).

Por sua vez, o potencial de Coulomb pode ser calculado através da equação:

$$V(r) = \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \frac{q_1q_2}{r} \quad (2.7)$$

$V(r)$  é o potencial eletrostático entre duas cargas;  $\epsilon_0$  é a permissividade elétrica do vácuo, também conhecida como constante de Coulomb;  $q_1$  e  $q_2$  são as magnitudes das cargas das partículas; e  $r$  é a distância entre essas duas cargas (Griffiths, 2023; Jackson, 2007; Schwinger, 2024).

Em complemento, as ligações de hidrogênio desempenham um papel crucial nas interações moleculares entre ligantes e receptores, incluindo o complexo formado entre o receptor  $\mu$ -opioide ( $\mu OR$ ) e seus ligantes (Chen *et al.*, 2016; Daoud *et al.*, 2023). Essas interações ocorrem quando um átomo de hidrogênio, covalentemente ligado a um átomo eletronegativo, como oxigênio, nitrogênio ou flúor, é atraído por pares de elétrons não compartilhados de átomos eletronegativos em moléculas vizinhas (Jabłoński, 2023; Herschlag; Pinney, 2018). No contexto da bioquímica de receptores, as ligações de hidrogênio auxiliam na estabilização da conformação do complexo ligante-receptor e influenciam diretamente a afinidade e a especificidade de ligação (Herschlag; Pinney, 2018). Embora sejam mais fracas que as ligações covalentes e iônicas, as ligações de hidrogênio são essenciais por sua natureza direcional, contribuindo significativamente para a arquitetura e função de biomoléculas. No caso do  $\mu OR$ , essas interações, juntamente com outras forças intermoleculares, como as interações hidrofóbicas, impactam as energias de ligação e, conseqüentemente, a eficácia farmacológica dos ligantes, como a morfina e o fentanil (Daoud *et al.*, 2023).

### 3 RESULTADOS

#### 3.1 Ancoragem molecular

O escore de ancoragem é uma métrica que avalia a qualidade da interação entre moléculas pequenas e proteínas (Li; Fu; Zhang, 2019; Bugnon *et al.*, 2024). Ademais, vários estudos destacam a importância de alcançar um RMSD menor ou igual a 1,0 Å comparando o experimental em procedimentos de ancoragem molecular, com o intuito de prever qual a melhor orientação de ajuste de um ligante em uma proteína (Lipiníski *et al.*, 2019; Zhuang *et al.*, 2022; Ellis *et al.*, 2018). Esse valor de RMSD é crucial porque reflete a precisão com que um modelo computacional pode prever a posição do ligante em relação ao alvo proteico, comparando-o com a estrutura experimental de referência (dados cristalográficos). Um RMSD baixo indica que o modelo gerado está muito próximo da estrutura experimental, sugerindo uma alta confiabilidade da orientação do ligante prevista (Zhuang *et al.*, 2022; Podlewska *et al.*, 2020; Huang *et al.*, 2015; Ellis *et al.*, 2018; Trott; Olson, 2010; Lipiníski *et al.*, 2019).

No complexo  $\mu\text{OR}::\text{Morfina}$ , utilizando os dados de escore de ancoragem pelo AutoDock Vina, as poses mais semelhantes de encaixe do ligante com o cristal foram a 2, 5 e 6, com valores de energia de -7,5, -7,1 e -7,0  $\text{kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ , destacadas nas cores magenta, laranja e vermelho, respectivamente (Figura 2). Além disso, o RMSD foi usado para medir a similaridade estrutural entre as poses de escore e os dados cristalográficos. Os valores de RMSD para as poses 2, 5 e 6 foram 1,4, 2,6 e 2,5 Å, respectivamente (Figura 4). Portanto, o menor valor de RMSD foi de 1,4 Å (pose 2) e o maior foi de 2,6 Å (pose 5).

Pelos dados de escore usando o Haddock, as poses com maior afinidade pelo  $\mu\text{OR}$  foram 1 e 2, com valores de energia de  $-39,5 \pm 0,5 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ . O RMSD encontrado foi de 2,3 Å para a pose 1 e 1,0 Å para a pose 2, respectivamente (Figura 4). Esses resultados sugerem que a pose 2, fornecida pelo Haddock, é a mais promissora em termos de interação com o  $\mu\text{OR}$ , devido ao menor RMSD, indicando que o Haddock é mais adequado para estudar a interação da morfina com o  $\mu\text{OR}$ .

No complexo  $\mu\text{OR}::\text{Fentanil}$ , os escores de ancoragem fornecidos pelo AutoDock Vina para as poses mais semelhantes com o cristal foram de -9,0, -8,4 e -7,7  $\text{kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ , correspondendo às poses 1, 3 e 10, respectivamente (Figura 5). Os valores de RMSD foram de 1,0, 1,4 e 2,1 Å, respectivamente.

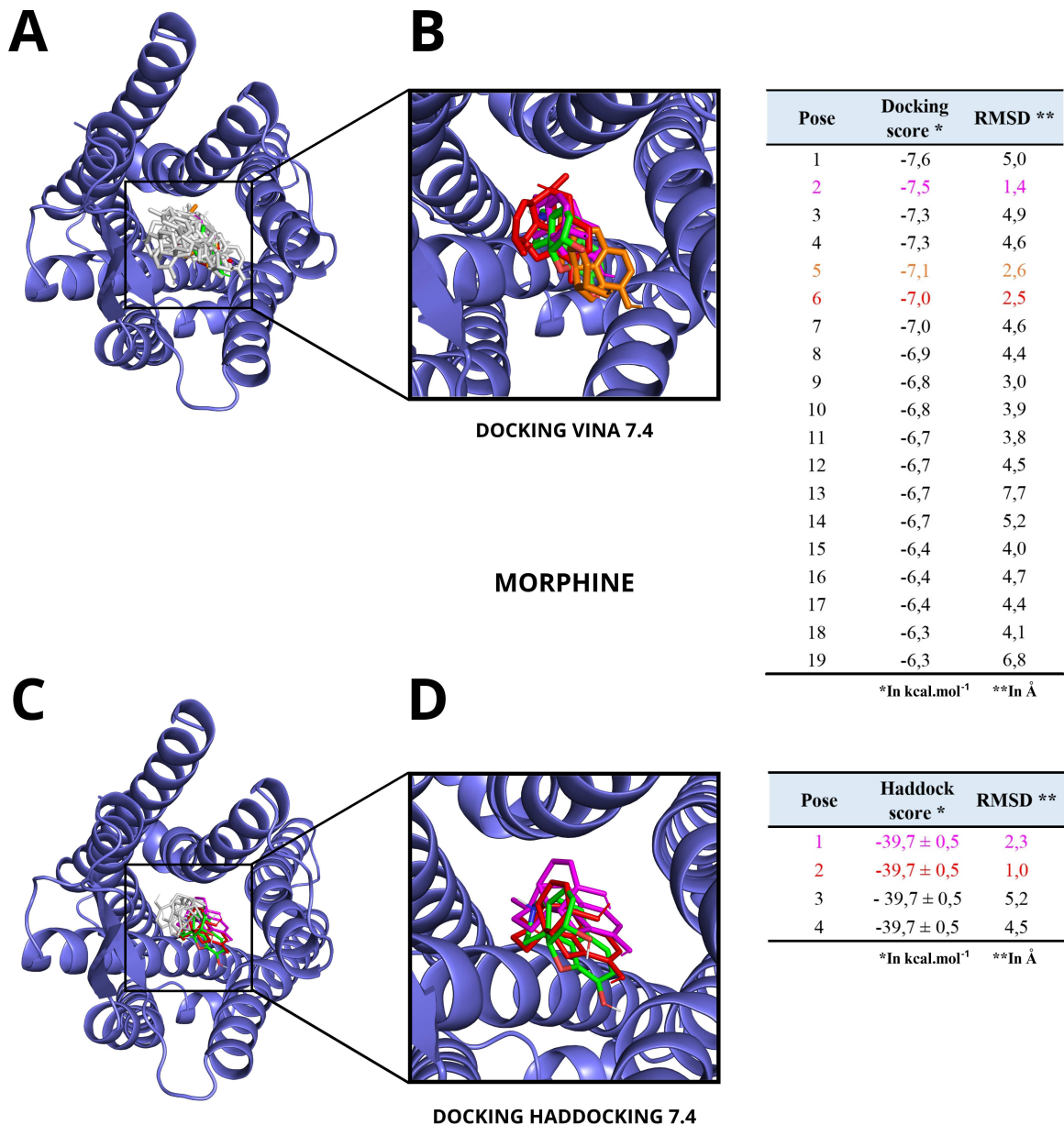
Quanto ao Haddock Score, as poses mais semelhantes com o cristal foram a 1, 2, 3 e

4, com valores de energia de  $-55,7 \pm 2,4 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$  (Figura 5). Os valores de RMSD para essas poses foram de 1,6 Å, 1,7 Å, 1,2 Å e 1,1 Å, respectivamente (Figura 5). Dessa forma, para o complexo  $\mu\text{OR}::\text{Morfina}$ , os resultados indicam que o Haddock Score é mais promissor do que o AutoDock Vina. A pose 2 gerada pelo Haddock apresentou o menor valor de RMSD (1,0 Å), sugerindo uma melhor sobreposição estrutural com a estrutura cristalográfica em comparação com o melhor resultado obtido pelo AutoDock Vina (pose 2 com RMSD de 1,4 Å).

No caso do complexo  $\mu\text{OR}::\text{Fentanil}$ , o AutoDock Vina apresentou melhor desempenho, com a pose 1 mostrando o menor RMSD (1,0 Å), indicando maior precisão na predição das interações. Ademais, o Haddock indicou valores de RMSD muito próximos aos do AutoDock Vina, em específico para as poses 3 (RMSD = 1,2 Å) e 4 (RMSD = 1,1 Å), respectivamente (Figura 5).

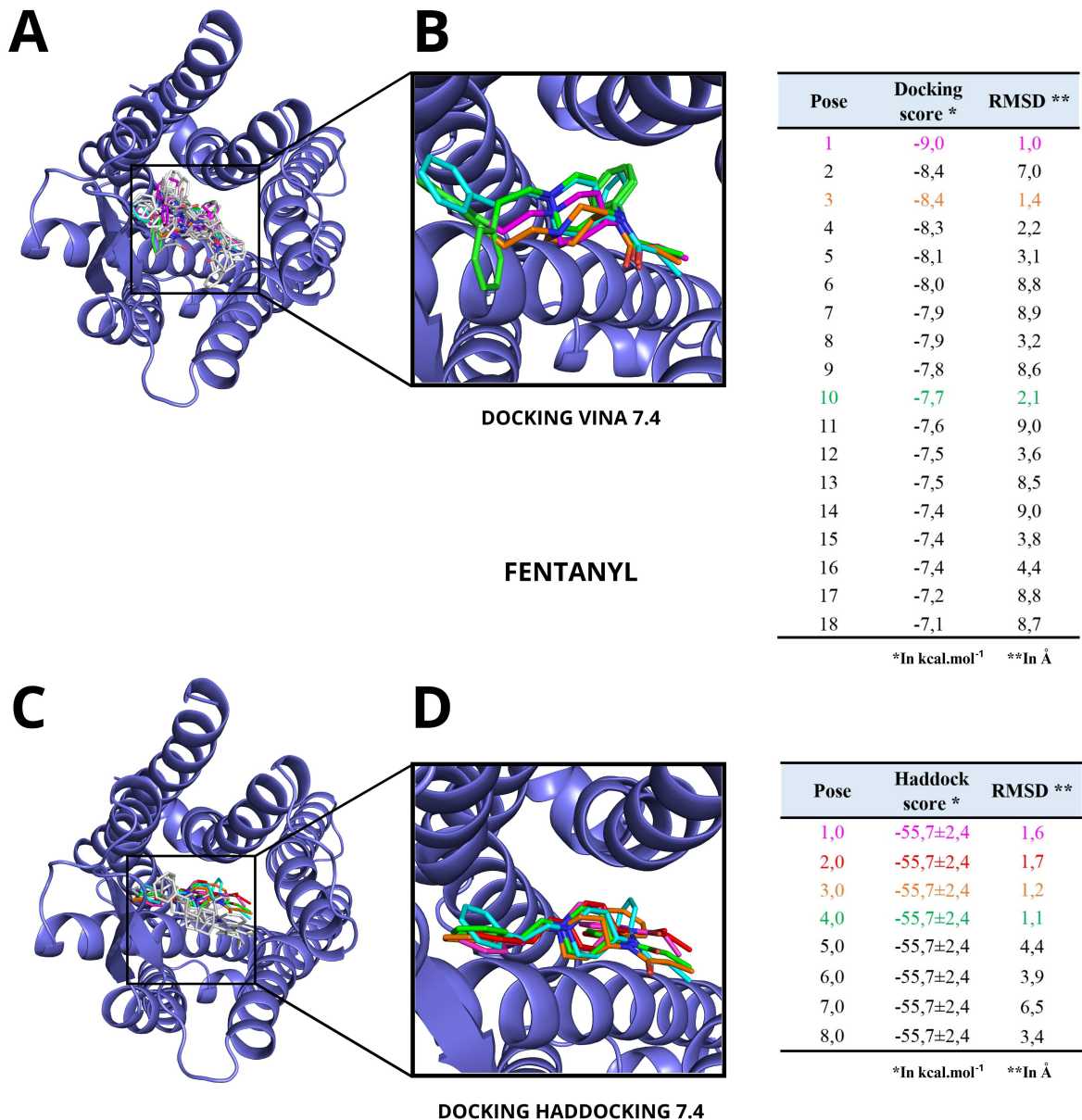
Assim, considerando o RMSD, que mede a diferença entre as estruturas preditas e a estrutura de referência (dados cristalográficos) (Lipiniski *et al.*, 2019; Zhuang *et al.*, 2022; Ricarte; Dalton; Giraldo, 2021), a pose 1 do AutoDock Vina e a pose 4 do Haddock do sistema  $\mu\text{OR}::\text{Fentanil}$  tiveram os menores valores de RMSD, indicando que se alinham bem com o modo de ligação cristalográfico (Figura 5). No entanto, o Vina mostrou um desempenho superior em comparação com o Haddock, com valores menores de RMSD indicando melhor sobreposição estrutural.

Figura 4 – Resultados do re-docking usando o AutoDock Vina e Haddock para o ligante, morfina (verde), representando a pose do cristal e o  $\mu$ OR (azul ardósia escuro). (A) e (C) representam os sistemas avaliados em condições de pH 7,4; (B) e (D) correspondem às poses de ligação mais similares aos dados obtidos por cristalografia. As tabelas à direita mostram as pontuações de escore  $kcal \cdot mol^{-1}$  e o RMSD  $\text{Å}$  das respectivas poses indicadas pelas duas ferramentas. (A e B) são os resultados do Vina e (C e D) os resultados do Haddock.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 5 – Resultados do re-docking usando o AutoDock Vina e Haddock para o ligante, fentanil (ciano) e o  $\mu$ OR (azul ardósia escuro). (A) e (C) representam os sistemas avaliados em condições de pH 7,4; (B) e (D) correspondem às poses de ligação mais similares aos dados obtidos por cristalografia, o que indica que essas conformações são mais próximas da estrutura real do fentanil e são representadas nas cores magenta, laranja, verde e vermelho. As tabelas à direita mostram as pontuações de escore  $kcal \cdot mol^{-1}$  e o RMSD  $\text{\AA}$  das respectivas poses indicadas pelas duas ferramentas. (A e B) são os resultados do Vina e (C e D) os resultados do Haddock.



Fonte: Elaborada pelo autor.



## 3.2 Dinâmica molecular

### 3.2.1 RMSD e RMSF dos complexos $\mu\text{OR}::\text{Morfina}$ e $\mu\text{OR}::\text{Fentanil}$

Durante as simulações DM1, DM2 e DM3, os valores de RMSD para a morfina ( $\mu\text{OR}$ ) entre 5 ns e 100 ns mostraram uma notável estabilidade ao longo do tempo. As variações  $\Delta\text{RMSD}$  obtidas foram de 0,82 Å em DM1, 0,19 Å em DM2 e 1,60 Å em DM3. A média dessas variações é igual a 0,87 Å. Em relação ao  $\mu\text{OR}$ , as variações  $\Delta\text{RMSD}$  para os átomos  $C\alpha$  foram de 0,78 Å em DM1, 0,11 Å em DM2 e 0,12 Å em DM3. Logo, a média dessas variações é equivalente a 0,33 Å (Figura 6).

De modo análogo, considerando o intervalo entre 5 ns e 100 ns para o fentanil, as variações  $\Delta\text{RMSD}$  foram de 0,50 Å em DM1, 0,54 Å em DM2 e 0,80 Å em DM3. A média dessas variações é igual a 0,61 Å. Em relação ao  $\mu\text{OR}$ , as variações  $\Delta\text{RMSD}$  para os átomos  $C\alpha$  foram de 0,27 Å em DM1, 0,36 Å em DM2 e 0,72 Å em DM3. Logo, a média variação é equivalente a 0,45 Å (Figura 6).

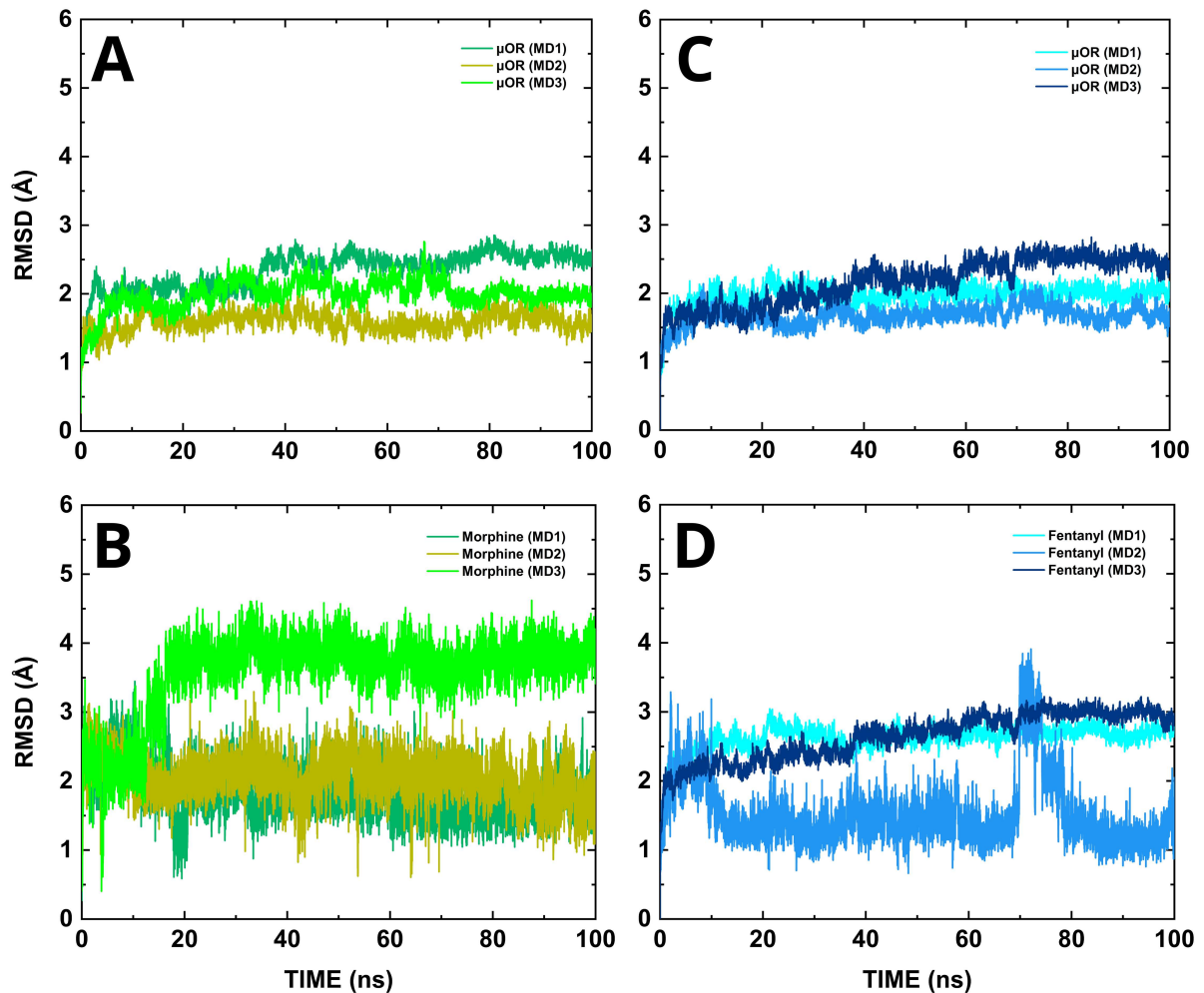
Os valores de RMSD para a morfina mostram maior estabilidade em DM2, com a menor variação  $\Delta\text{RMSD}$  (0,19 Å), e maior variação em DM3 (1,6 Å). A estabilidade do  $\mu\text{OR}$  ligado a morfina é maior em DM2, com a menor variação  $\Delta\text{RMSD}$  (0,11 Å). A média das variações dos valores de RMSD do  $\mu\text{OR}$  com morfina é de 0,33 Å, indicando boa estabilidade ao longo das simulações de DM.

Por sua vez, os valores de RMSD para o fentanil apresentam menor variação em DM1 (0,50 Å) e DM2 (0,54 Å), com maior variação em DM3 (0,80 Å). A média das variações de RMSD para o fentanil foi de 0,61 Å. A estabilidade do  $\mu\text{OR}$  ligado ao fentanil é maior em DM1 ( $\Delta\text{RMSD}$  de 0,27 Å) e menor em DM3 ( $\Delta\text{RMSD}$  de 0,72 Å). Assim, a média da variação dos valores de RMSD do  $\mu\text{OR}$  ligado ao fentanil é de 0,45 Å, também, evidenciando a estabilidade durante as simulações de DM.

O fentanil ( $\Delta\text{RMSD} = 0,61$  Å) se destacou por sua estabilidade superior à da morfina ( $\Delta\text{RMSD} = 0,87$  Å), evidenciada pela menor variação de RMSD. Já o receptor  $\mu\text{OR}$  apresentou estabilidade similar ao interagir com ambos os ligantes, com variações médias  $\Delta\text{RMSD}$  de 0,33 Å e 0,45 Å para morfina e fentanil, respectivamente.

Os valores de RMSF obtidos para os átomos  $C\alpha$  considerando os resíduos do  $\mu\text{OR}$  ligado à morfina e ao fentanil não apresentaram muitas variações, indicando que os dois têm ação bastante semelhante na flutuação estrutural do  $\mu\text{OR}$ . Para o complexo  $\mu\text{OR}::\text{MOR}$ , considerando

Figura 6 – Gráficos de RMSD *versus* tempo de simulação (em ns). (A) e (B) exibem os valores de RMSD para o  $\mu$ OR e a morfina. (C) e (D) mostram os valores de RMSD para o  $\mu$ OR e o fentanil. As linhas destacadas nas cores verde limão, amarelo forte, verde limão claro, ciano, azul e azul escuro mostram os RMSD Å de todos os átomos pesados na morfina, fentanil e  $\mu$ OR, respectivamente.



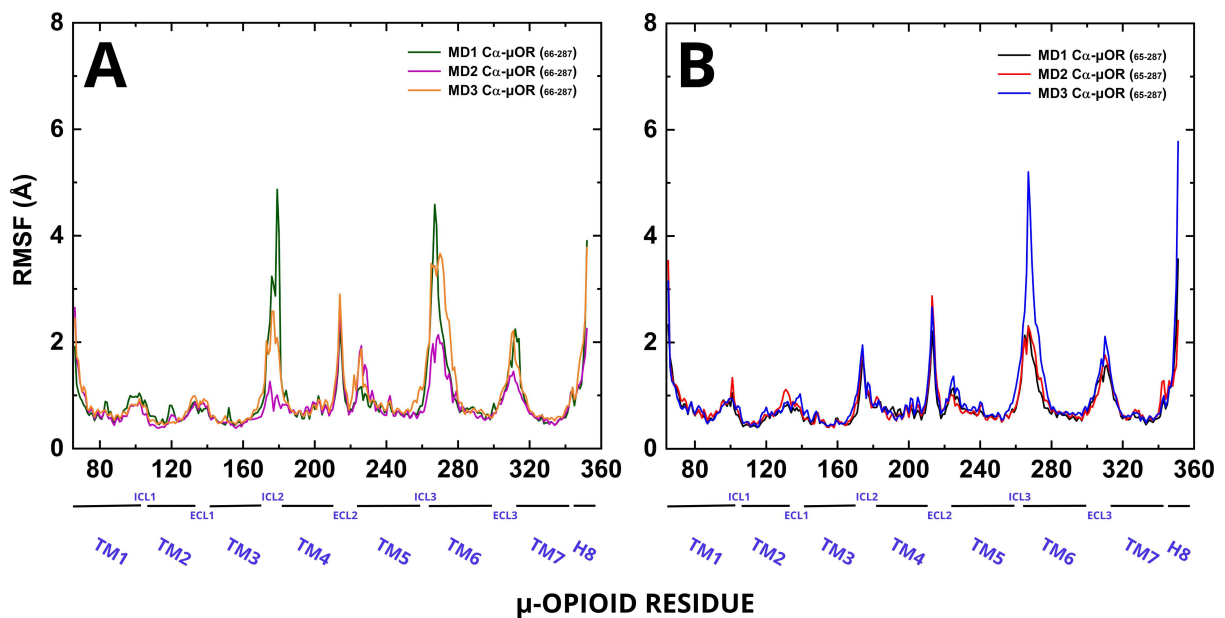
Fonte: Elaborada pelo autor.

para essa descrição os resíduos mais próximos com menores energias de interação, temos os seguintes valores de RMSF: ASP149 (0,17 Å) e TYR150 (0,49 Å), MET153 (0,45 Å), TRP295 (0,53 Å), ILE298 (0,57 Å), VAL302 (0,77 Å), ILE324 (0,58 Å) e TYR328 (0,51 Å). No caso do complexo  $\mu$ OR::FEN, os resíduos de menores energias de interação mostram valores de RMSF distintos: CYS219 (0,68 Å), GLN126 (0,66 Å), ASN129 (0,72 Å), ILE146 (0,50 Å), ASP149 (0,68 Å), MET153 (0,53 Å), LYS235 (0,69 Å), TRP295 (0,58 Å), ILE298 (0,56 Å), HIS299 (0,66 Å), TRP320 (0,64 Å), ILE324 (0,58 Å) e TYR328 (0,67 Å) (Figura 7A e 7B). Isso sugere que essas regiões do  $\mu$ OR são mais rígidas ou estão mais fortemente ligadas, em comparação

com áreas que têm um RMSF mais alto. Além disso, os aminoácidos com alta energia de interação com a morfina e fentanil, descritos anteriormente exibem pouca flutuação estrutural (Figura 7), como se é esperado (Serohijos *et al.*, 2011).

Comparando os valores de RMSF entre as dinâmicas moleculares, observa-se que os padrões de flexibilidade do  $\mu$ OR são semelhantes, com picos de elevação principalmente nas alças intracelulares (ICLs) e extracelulares (ECLs), enquanto as hélices transmembranares (TM) são mais rígidas, evidenciada por baixos picos de elevação (Figura 7A e 7B). Isso indica uma resposta estável do receptor  $\mu$ OR à presença da morfina e do fentanil. Complementar a isso, as regiões que apresentaram maior variação foram as ICL2, ECL2, ICL3 e ECL3, enquanto TM1, TM2, TM3, TM4, TM5, TM6 e TM7 mostram-se mais rígidas durante as simulações de 100 ns, realizadas em triplicata.

Figura 7 – RMSF dos resíduos do  $\mu$ OR, considerando os átomos da cadeia  $\alpha$ . (A) Gráficos de RMSF para os átomos  $C\alpha$ - $\mu$ OR (morfina) considerando os aminoácidos do  $\mu$ OR em DM1, DM2 e DM3, nas cores verde limão, magenta e laranja, respectivamente. (B) Gráficos de RMSF para os átomos  $C\alpha$ - $\mu$ OR (Fentanil) levando em conta os resíduos do  $\mu$ OR em DM1, DM2 e DM3, nas cores preto, vermelho e azul, respectivamente. Além disso, as alças intracelulares (ECL1), extracelulares (ECL2) e as hélices transmembranares (TM) são representadas.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Outrossim, de acordo com a DFT, os resíduos ASP149, TYR150, MET153, TRP295, ILE298, HIS299, VAL302, ILE324 e TYR328 fazem parte do grupo de aminoácidos que interagem fortemente com a morfina, o que tem relação direta com a baixa flutuação estrutural

ao longo das dinâmicas (Figura 7A 7B). De modo análogo, essa relação também foi observada na Figura 7B, com CYS219, GLN126, ASN129, ILE146, ASP149, LYS235, TRP295, ILE298, HIS299, MET153, TRP320, ILE324 e TYR328 demonstrando alta energia de interação com o fentanil e apresentando baixa flutuação dinâmica. Novamente, pela DFT, os resíduos das (ICLs) e (ECLs) não exibiram alta energia de interação na presença da morfina e fentanil.

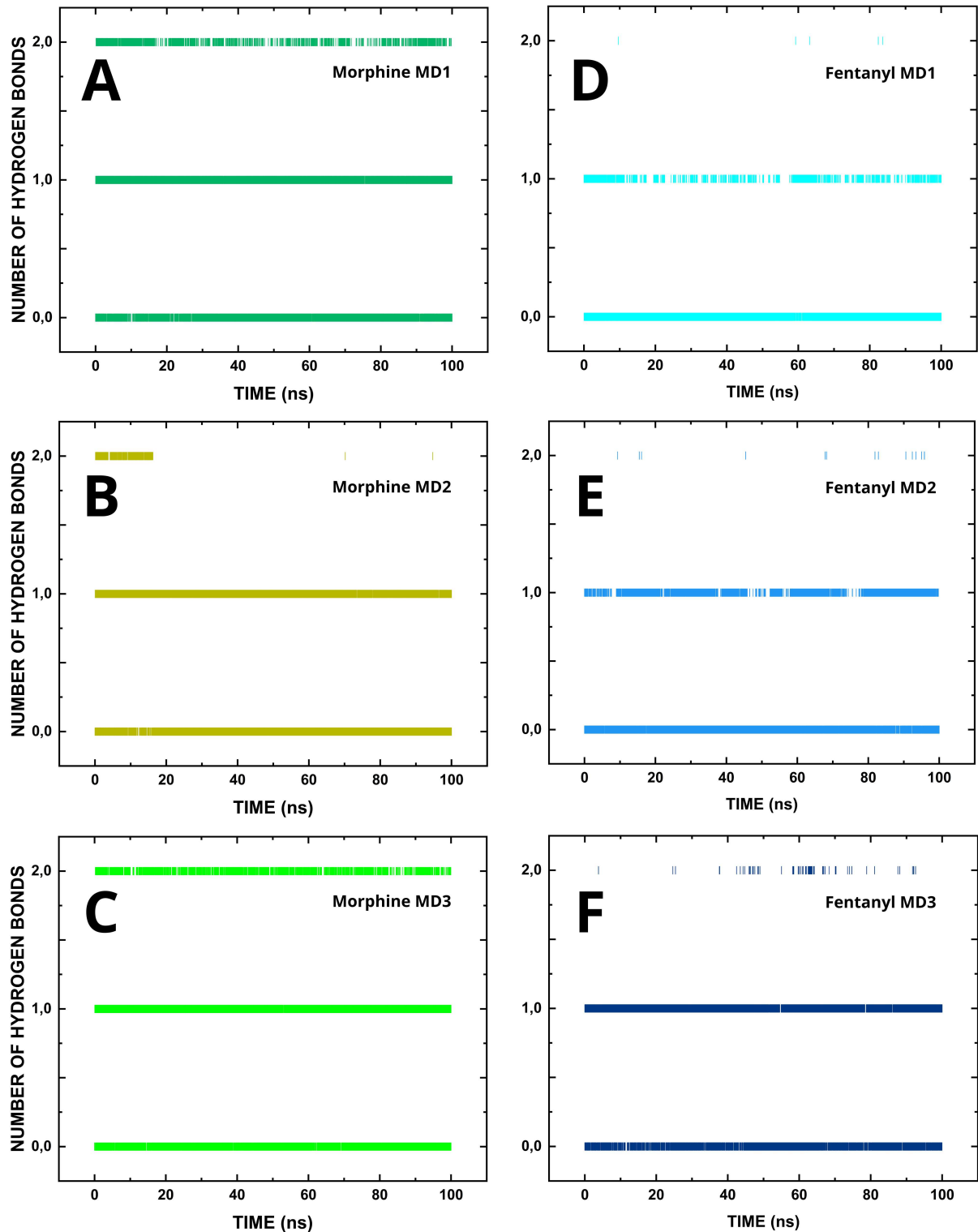
### 3.2.2 Perfil dinâmico das ligações de hidrogênio nos complexos $\mu\text{OR}::\text{MOR}$ e $\mu\text{OR}::\text{FEN}$

Observou-se um padrão nas interações de ligação de hidrogênio entre o ligante (morfina) e o  $\mu\text{OR}$  ao longo das dinâmicas moleculares de 100 ns realizadas em triplica (Figura 18A, 18B, 18C). Em DM1 e DM3, a maioria das interações envolveu a formação de uma ou nenhuma ligação de hidrogênio, sendo as formações de duas ligações menos frequentes (Figuras 18A e 18C). Especificamente, em DM1, as interações com duas ligações de hidrogênio foram menos frequente do que uma ou nenhuma, enquanto em DM3 essas formações também foram menos comuns comparadas às interações com uma ou nenhuma ligação de hidrogênio. Em contraste, em DM2, a formação de duas ligações de hidrogênio foi raro, com a maioria das interações apenas no início da simulação, concentrando-se principalmente até 17 ns (Figura 8B).

Analogamente, para o complexo  $\mu\text{OR}::\text{FEN}$ , as dinâmicas moleculares mostraram uma constância no número de ligações de hidrogênio formadas, com predominância de nenhuma ou uma ligação em DM1, DM2 e DM3 (Figuras 8D, 8E e 8F). A formação de duas ligações de hidrogênio foi rara nas três simulações, sendo essa ausência mais perceptível em DM1 no intervalo de 9,60 a 59,24 ns.

Em resumo, nos sistemas  $\mu\text{OR}::\text{MOR}$  e  $\mu\text{OR}::\text{FEN}$ , observou-se uma consistência predominante na formação de nenhuma ou uma ligação de hidrogênio ao longo das dinâmicas moleculares. O aumento no número de ligações de hidrogênio geralmente indica uma interação mais forte entre as moléculas. No entanto, a formação de duas ligações de hidrogênio foi significativamente menos comum nas dinâmicas estudadas para ambos os complexos (Figuras 18A a 18F). Ademais, o número médio de ligações de hidrogênio das três simulações para os complexos  $\mu\text{OR}::\text{MOR}$  e  $\mu\text{OR}::\text{FEN}$  foi 0,67 e 0,43 sugerindo que a morfina estabeleceu maior número de ligações de hidrogênio ao longo do tempo.

Figura 8 – Variação temporal do número de ligações de hidrogênio para a morfina e fentanil nas três réplicas de dinâmica molecular de 100 ns. (A), (B) e (C) representam o número de ligações de hidrogênio entre a morfina e o  $\mu$ OR em suas respectivas repetições em função do tempo, onde DM1, DM2 e DM3 representam as dinâmicas para a morfina, enquanto (D), (E) e (F) indicam o mesmo para o complexo  $\mu$ OR::FEN, sendo DM1, DM2 e DM3 as representações das dinâmicas para o fentanil.



### 3.3 Bioquímica quântica

Os dados quânticos provenientes da DFT descrevem detalhadamente as interações moleculares não-covalentes formadas nos sistemas  $\mu\text{OR}::\text{MOR}$  e  $\mu\text{OR}::\text{FEN}$  nas simulações de dinâmica molecular realizadas. As interações mais predominantes foram van der Waals, ligações de hidrogênio clássicas, incluindo ligação de hidrogênio convencional (mediadas pelo grupo amida do fentanil e pelo anel aromático da morfina), ligação de hidrogênio com água, ligação de hidrogênio com carbono e ligação de hidrogênio  $\pi$ -doador. Também foram observadas interações eletrostáticas do tipo ponte salina, carga atrativa,  $\pi$ -ânion,  $\pi$ -cátion e interações hidrofóbicas do tipo empilhamento  $\pi - \pi$ , empilhamento  $\pi - \pi$  em formato T, alquil e  $\pi$ -alquil. No sistema  $\mu\text{OR}::\text{FEN}$ , o anel piperidina fez interações desfavoráveis do tipo colisão desfavorável e doador-doador desfavorável. Esses dados de interações não-covalentes referem-se à conformação final extraída de cada DM, a uma distância de 10 Å a partir do centroide dos opioides morfina e fentanil (Figura 9 a Figura 14).

#### 3.3.1 Interações de energia do complexo $\mu\text{OR}::\text{MOR}$

Na dinâmica DM1, as menores energias de interação foram observadas com os resíduos ASP149 (carga atrativa), HIS299 (ligação de hidrogênio e empilhamento  $\pi - \pi$ ), TYR150 (van der Waals), MET153 ( $\pi$ -alquil), TYR328 (van der Waals), ILE324 (van der Waals), TRP295 (empilhamento  $\pi - \pi$ ) e ILE298 ( $\pi$ -alquil) (Figura 9C). Os valores de energia para esses resíduos mais interativos foram:  $-8,41$ ,  $-7,59$ ,  $-6,14$ ,  $-5,24$ ,  $-5,08$ ,  $-4,45$ ,  $-3,71$  e  $-3,11 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ , respectivamente (Figura 9A).

Sete resíduos do  $\mu\text{OR}$  (ALA119, SER331, TYR328, ALA242, VAL238, TYR150 e ILE324) exibiram interações de van der Waals com a morfina, enquanto ILE298 (5,08 Å) e MET153 (5,07 Å) estabeleceram interação  $\pi$ -alquil com a morfina. TRP295 (5,15 Å) realizou interação empilhamento  $\pi - \pi$ . O resíduo de aminoácido HIS299 (2,10 Å) demonstrou ligação de hidrogênio. ASP149 (4,80 Å) apresentou ligação carga atrativa com a morfina. GLY327 (2,94 Å) formou uma ligação carbono-hidrogênio. Além disso, quatro moléculas de água com distâncias 1,86, 2,53, 2,67 e 1,98 Å admitiram ligações de hidrogênio com os anéis aromático, alcoólico, tetraidrofurano e piperidina da morfina (Figura 9B e 9C). Em conformidade com isso, os aminoácidos THR122 e VAL238 realizaram ligações de hidrogênio com água, uma vez que essas moléculas formam pontes entre esses resíduos e a MOR (Figura 9C).

Na dinâmica molecular DM2, as menores energias de interação foram observadas com ASP149 (carga atrativa), HIS299 (ligação de hidrogênio), MET153 ( $\pi$ -enxofre), TYR150 (van der Waals), ILE298 ( $\pi$ -alquil), TRP295 (van der Waals), ILE324 (van der Waals) e TYR328 ( $\pi$ -cation), respectivamente (Figura 10C). Os valores de energia para estes resíduos mais interativos foram:  $-18,16, -7,25, -6,73, -6,71, -4,51, -4,34, -4,03$  e  $-2,85 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ , respectivamente (Figura 10A).

Nove resíduos do receptor  $\mu$ -opioide (TRP320, ALA119, ILE324, TRP295, GLY327, ALA242, VAL238, VAL302 e TYR150) exibiram interações de van der Waals com a morfina, enquanto, TYR328 (4,49 Å) teve interação do tipo carga atrativa. ASP149 (2,14 Å) estabeleceu interação  $\pi$ -cation. Ademais, o resíduo HIS299 (1,85 Å) formou ligação de hidrogênio com a morfina. ILE298 (4,46 Å) teve interação  $\pi$ -alquil. Por fim, o resíduo MET153 (3,71 Å) teve interação do tipo  $\pi$ -enxofre (Figura 7C). Além disso, três moléculas de água com distâncias 2,39, 2,87 e 2,59 Å estabeleceram ligações de hidrogênio com os anéis aromático, alcoólico, tetraidrofurano da morfina. (Figura 10B e 10C). Outrossim, TYR150 e ASP149 exibiram ligações de hidrogênio com água, contribuindo para uma interação mais forte desses os resíduos com a MOR Figura 10C).

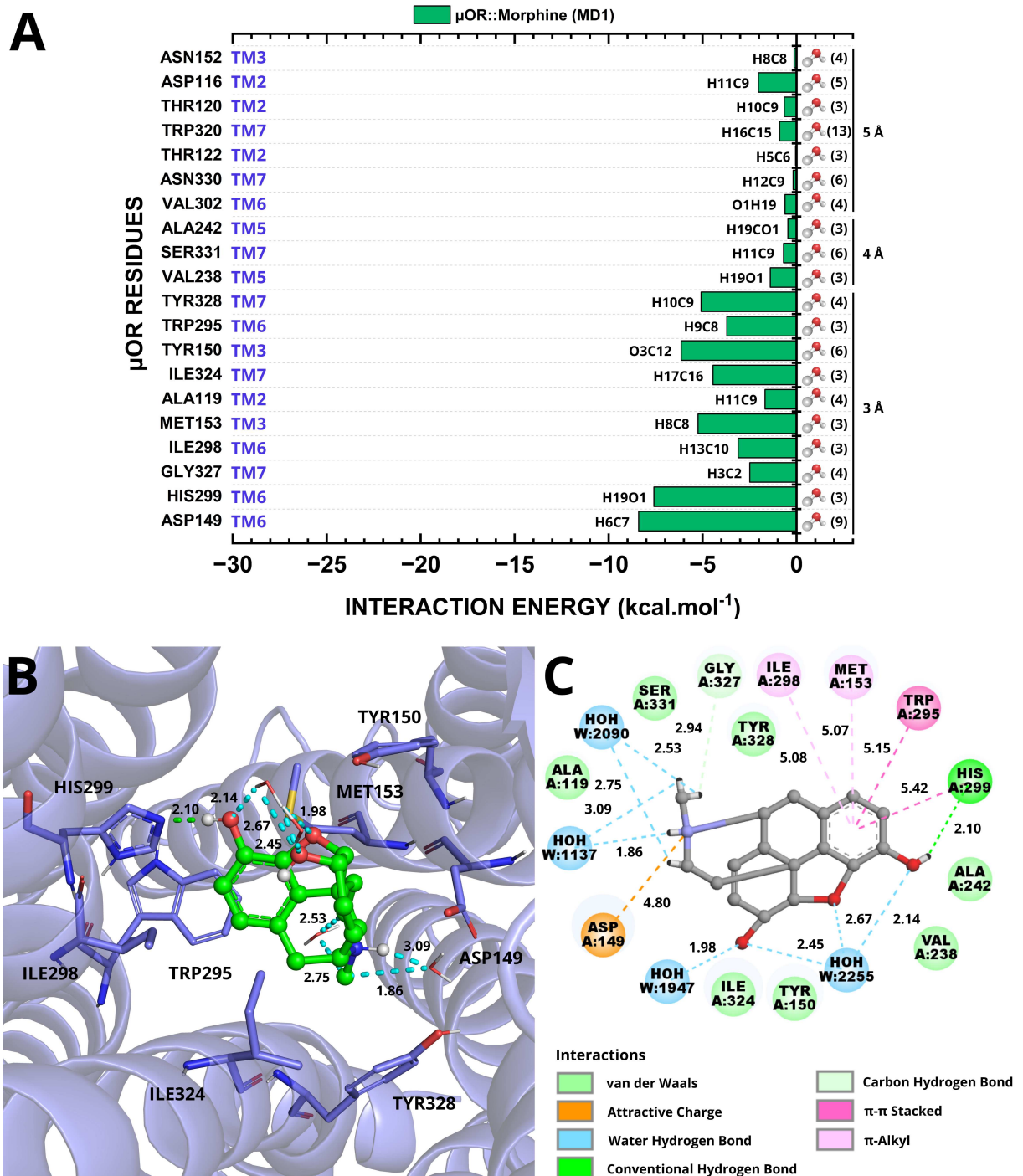
Finalmente, na DM3 as menores energias de interação foram observadas com ASP149 (ponte salina), HIS299 (ligação de hidrogênio), TYR150 (van der Waals), MET153 ( $\pi$ -enxofre), VAL302 (alquil e  $\pi$ -alquil), TRP295 (van der Waals), ILE298 e ILE324 (alquil), respectivamente (Figura 11). Os valores de energia para estes resíduos mais interativos foram:  $-13,90, -8,07, -6,43, -6,42, -5,54, -3,82, -3,79$  e  $-3,40 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ , respectivamente (Figura 11A).

Sete resíduos do  $\mu$ OR (VAL328, TYP150, TRP320, ILE324, ALA119, GLY327 e TRP295) exibiram interações de van der Waals com a morfina, enquanto, VAL302 teve interação dupla: alquil (4,47 Å) e  $\pi$ -alquil (5,35 Å). Além disso, o aminoácido MET153 (3,50 Å) fez interação  $\pi$ -enxofre com a morfina. O resíduo ILE398 (5,50 Å) realizou interação  $\pi$ -alquil. Ainda, TYR328 (4,81 Å) teve interação do tipo  $\pi$ -cation. HIS299 interagiu duplamente, formando ligações de hidrogênio (1,93 Å) e empilhamento  $\pi$ - $\pi$  em forma de T (4,71 Å) com o anel aromático. Finalmente, o resíduo ASP149 (4,71 Å) também fez interação dupla do tipo carga atrativa (2,39 Å) e carbono-hidrogênio (2,39 Å). Além disso, cinco moléculas com distâncias 2,85, 2,66, 2,02, 2,49 e 2,60 Å fizeram ligações de hidrogênio com os anéis aromático, alcoólico, tetraidrofurano, cicloexano e piperidina da morfina (Figura 11B e 11C). Adicionalmente, os aminoácidos ASP149, ILE146 e TYR150 demonstraram ligações de hidrogênio com água,

contribuindo para uma interação mais forte desses os resíduos com a MOR (Figura 11C).

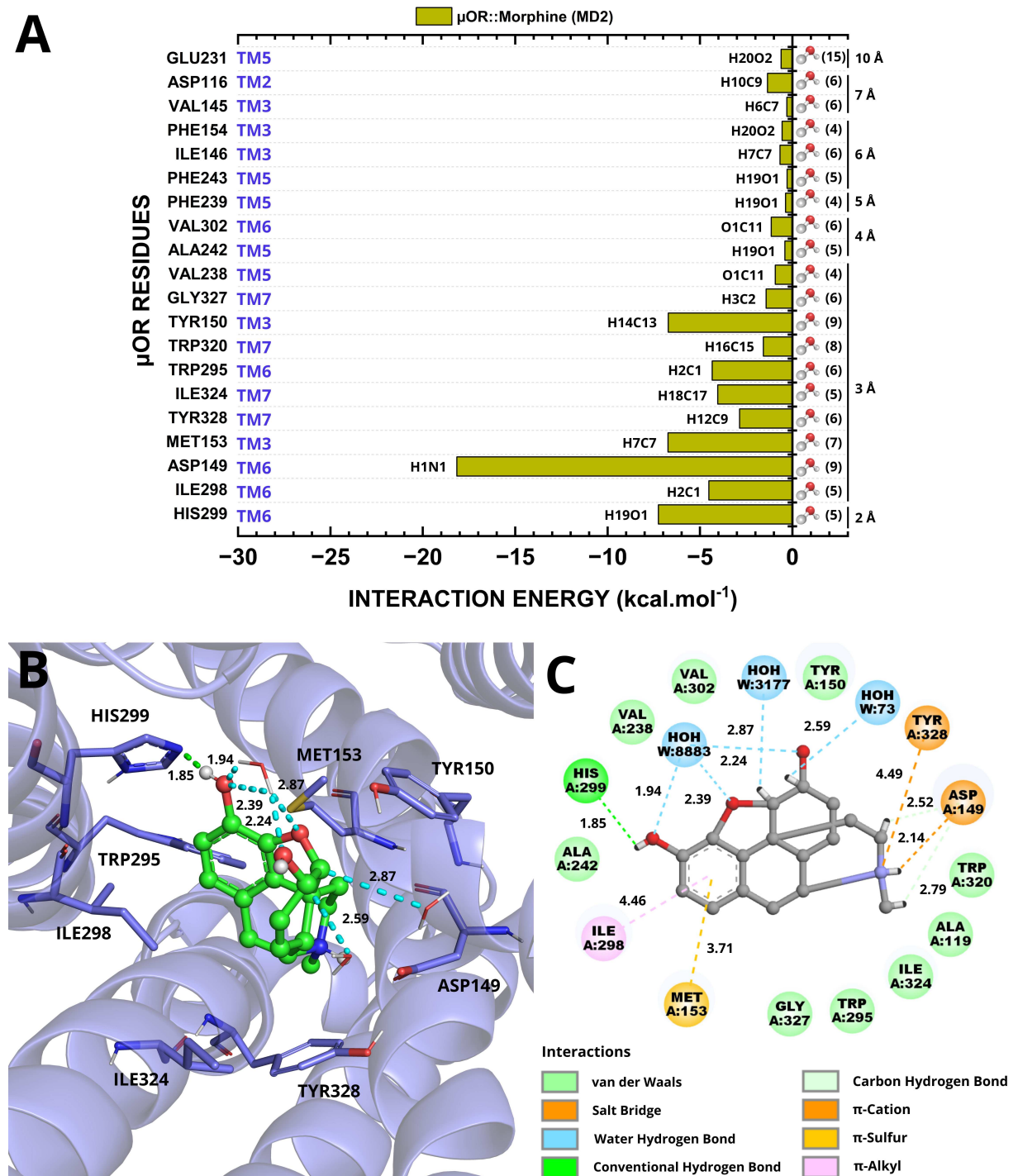


Figura 9 – Descrição das interações intermoleculares no complexo  $\mu\text{OR}::\text{MOR}$  (MD1). (A) Diagrama BIRD apresentando a energia de interação  $\text{kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$  dos 20 principais resíduos com a morfina e as regiões da transmembrana (TM) do  $\mu\text{OR}$ . A distância de cada resíduo ao centroide da morfina é fornecida no lado direito do painel. Também são indicados os números de moléculas de água explícitas que participam da interação. (B) Ilustração 3D que ilustra os resíduos que se destacam por suas intensas interações energéticas com a morfina. (C) Interações não covalentes dentro de um raio de 10 Å do ligante, morfina, com as distâncias Å de cada interação listadas.



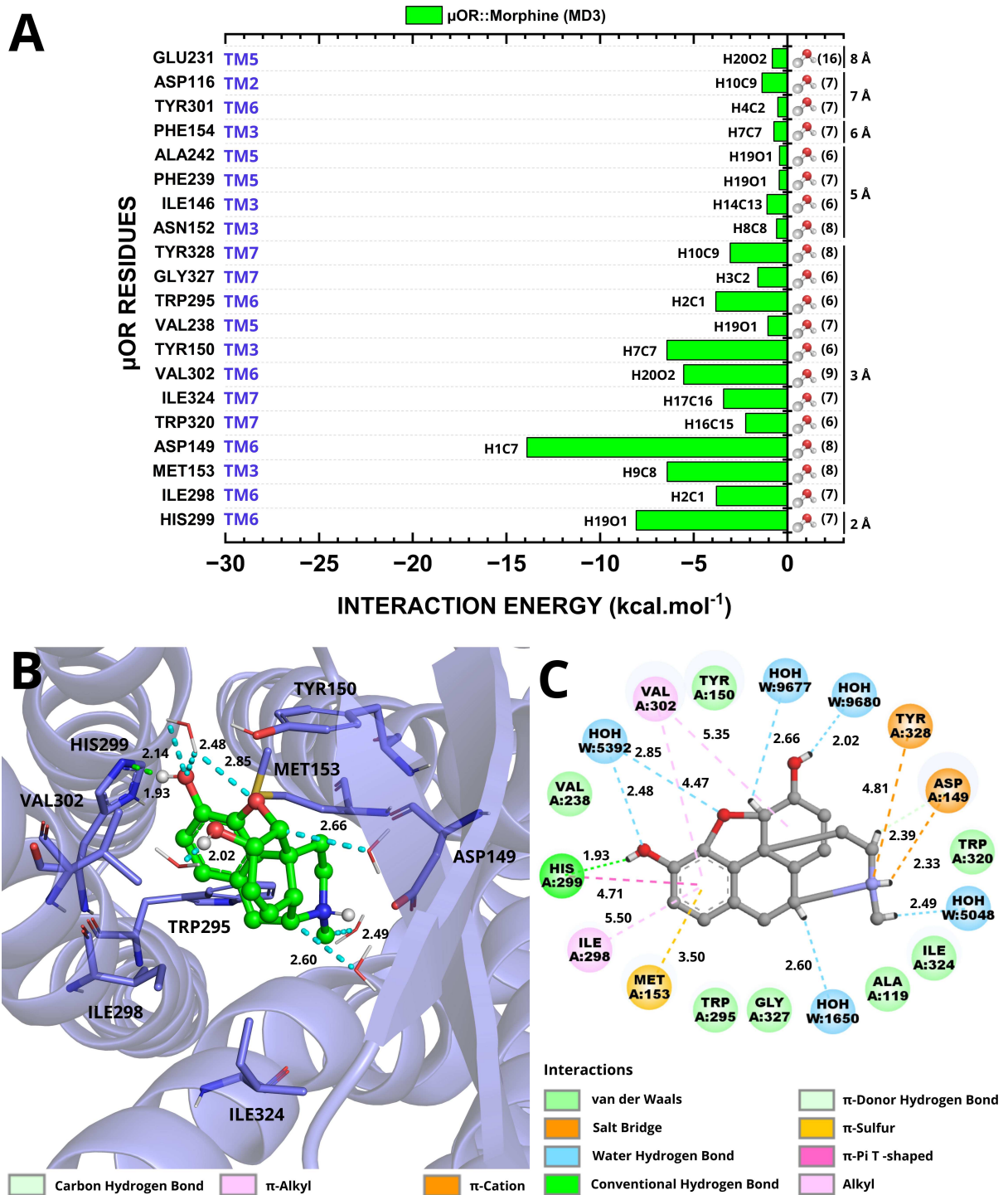
Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 10 – Descrição das interações intermoleculares no complexo  $\mu\text{OR}::\text{MOR}$  (MD2). (A) Diagrama BIRD apresentando a energia de interação  $\text{kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$  dos 20 principais resíduos com a morfina e as regiões da transmembrana (TM) do  $\mu\text{OR}$ . A distância de cada resíduo ao centroide da morfina é fornecida no lado direito do painel. Também são indicados os números de moléculas de água explícitas que participam da interação. (B) Ilustração 3D que ilustra os resíduos que se destacam por suas intensas interações energéticas com a morfina. (C) Interações não covalentes dentro de um raio de 10 Å do ligante, morfina, com as distâncias Å de cada interação listadas.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 11 – Descrição das interações intermoleculares no complexo  $\mu\text{OR}::\text{MOR}$  (MD3). (A) Diagrama BIRD apresentando a energia de interação  $\text{kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$  dos 20 principais resíduos com a morfina e as regiões da transmembrana (TM) do  $\mu\text{OR}$ . A distância de cada resíduo ao centroide da morfina é fornecida no lado direito do painel. Também são indicados os números de moléculas de água explícitas que participam da interação. (B) Ilustração 3D que ilustra os resíduos que se destacam por suas intensas interações energéticas com a morfina. (C) Interações não covalentes dentro de um raio de 10 Å do ligante, morfina, com as distâncias Å de cada interação listadas.



Fonte: Elaborada pelo autor.

### 3.3.2 Interações de energia no complexo $\mu\text{OR}::\text{FEN}$

As menores energias de interação na DM1 foram observadas com ASP149 (ponte salina), TYR328 (empilhamento  $\pi - \pi$ ), ILE324 e ILE298 (alquil e  $\pi - \text{alquil}$ ), LYS235 (ligação de hidrogênio), ILE146, TRP320 e TRP295 (van der Waals), respectivamente (Figura 12C). Os valores de energia de interação para estes resíduos mais interativos: ASP149, ASN129, TYR328, ILE324, ILE298, LYS235, ILE146 e TRP295 foram:  $-11,05$ ,  $-5,74$ ,  $-5,56$ ,  $-4,85$ ,  $-4,64$ ,  $-3,89$ ,  $-2,95$  e  $-2,72 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ , respectivamente (Figura 12A).

Nove aminoácidos do  $\mu\text{OR}$  (TRP295, VAL302, TRP320, VAL145, TRP135, ILE146, ASN129, CYS323 e GLY327) exibiram interações de van der Waals com o fentanil, enquanto, HIS299 (4,11 Å), ILE324 (5,03 Å), ILE298 (4,80 Å) e CYS219 (4,48 Å) realizaram interações hidrofóbicas do tipo  $\pi - \text{alquil}$  com o FEN. Por sua vez, VAL238 (5,23 Å) demonstrou interação alquil com o grupo amida. Já o resíduo LYS235 (1,94 Å) demonstrou uma ligação de hidrogênio com o grupo amida do fentanil. Além disso, MET153 (5,44 Å) constituiu uma interação  $\pi - \text{enxofre}$  com o anel anilina. Ademais, o resíduo ASP149 realizou interação dupla do tipo ponte salina (2,55 Å) e carbono-hidrogênio (3,83 Å) com o anel piperidina e por fim, GLN126 (2,13 Å) apresentou uma ligação de hidrogênio  $\pi - \text{doador}$  e TYR328 (4,73 Å), empilhamento  $\pi - \pi$  com o anel anilina (Figura 12C). Outrossim, uma molécula de água com distâncias 2,04 Å estabeleceu ligação de hidrogênio e uma com distância 1,99 Å apresentou interação desfavorável, ambas, com o anel piperidina do fentanil. Consoante a isso, os aminoácidos ASP149 e TYR328 realizaram ligações de hidrogênio com água, uma vez que essas moléculas formam pontes entre esses resíduos com o FEN (Figura 12C).

Em DM2, as menores energias de interação foram observadas com ASP149 (ponte salina), ILE324 (van der Waals), TYR328 (van der Waals), ILE298 (alquil), TRP295 (van der Waals), HIS299 (alquil), ILE146 (van der Waals) e MET153 ( $\pi - \text{enxofre}$ ), respectivamente (Figura 10). Os valores de energia de interação para estes resíduos mais interativos foram:  $-12,03$ ,  $-5,62$ ,  $-4,59$ ,  $-4,58$ ,  $-3,85$ ,  $-3,51$ ,  $-2,70$  e  $-2,69 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ , respectivamente (Figura 13A).

Onze resíduos do  $\mu\text{OR}$  (LYS235, VAL145, ILE146, TRP135, ASP218, GLN126, ASN129, TYR328, ILE324, GLY327 e TRP295) exibiram interações de van der Waals com o FEN, enquanto, MET153 (5,31 Å) teve interação do tipo  $\pi - \text{enxofre}$ . Já ASP149 (2,82 Å) estabeleceu interação dupla do tipo carga atrativa e carbono-hidrogênio com o anel piperidina. Ademais, o resíduo CYS219 (5,33 Å) teve interação do tipo  $\pi - \text{alquil}$  com a cadeia N-aquil. Por

fim, os aminoácidos VAL302 (4,77 Å), ILE298 (4,07 Å) e HIS299 (3,38 Å) fizeram interações alquil, (Figura 10C) com o grupo amida do FEN. Além disso, seis moléculas de água com distâncias 2,04, 2,31, 4,77, 2,92, 1,92 e 2,59 Å apresentaram ligações de hidrogênio com o anel piperidina e a cadeia N-álquil do fentanil. Além disso, TYR328, LYS235 e GLN126 demonstraram ligações de hidrogênio com água, contribuindo para uma interação mais forte desses os resíduos com o FEN.

Na DM3, as menores energias de interação foram observadas com ASP149 (ponte salina e  $\pi$ -anion), ILE324 (álquil), ILE146 ( $\pi$ -álquil), ILE298 (álquil), GLN126 (ligação de hidrogênio  $\pi$ -doador), TYR328 (empilhamento  $\pi$ - $\pi$ ), TRP295 (van der Waals) e TRP320 (van der Waals), respectivamente (Figura 14C). Os valores de energia para estes resíduos mais interativos: ASP149, ILE324, ILE146, ILE298, GLN126, TYR328, TRP295 e TRP320 foram: -19,26, -6,09, -4,64, -4,30, -4,30, -3,77, -3,55 e -2,99  $kcal \cdot mol^{-1}$  (Figura 14A).

Sete resíduos do  $\mu$ OR (TRP295, TRP320, TYR150, VAL145, TRP135, ASN129 e GLY127) exibiram interações de van der Waals com o fentanil, enquanto MET153 (5,60 Å) teve interação do tipo  $\pi$ -enxofre. Já o aminoácido ASP149 estabeleceu interação dupla do tipo carga atrativa (1,78 Å) e  $\pi$ -anion (2,93 Å) com o anel piperidina e a cadeia N-álquil. Por sua vez os resíduos VAL302 (4,16 Å), HIS299 (3,99 Å), VAL238 (5,29 Å), ILE298 (5,29) e ILE324 (5,80) tiveram interação do tipo alquil com o grupo amida. Os resíduos ILE146 (2,77 Å) e CYS219 (5,13 Å) tiveram interação do tipo  $\pi$ -álquil. Além disso, GLN126 realizou uma ligação de hidrogênio  $\pi$ -doador com a cadeia N-álquil e TYR328 apresentou uma interação empilhamento  $\pi$ - $\pi$  (Figura 14C). Ademais, quatro moléculas de água com distâncias 1,80, 2,45, 2,78 e 2,93 Å formaram ligações de hidrogênio com o anel piperidina e o grupo amida e uma com distância 2,40 Å demonstrou ligação desfavorável doador-doador com o anel piperidina do fentanil. Em complemento, os aminoácidos ASP149, GLN126, ILE146 e TYR328 demonstraram ligações de hidrogênio com água, contribuindo para uma interação mais forte desses resíduos com FEN.

Em resumo, os resíduos mais interativos do complexo  $\mu$ OR::MOR, com menores energias de interação (média) foram ASP149 (-13,49  $kcal \cdot mol^{-1}$ ), HIS299 (-7,64  $kcal \cdot mol^{-1}$ ), TYR150 (-6,43  $kcal \cdot mol^{-1}$ ), MET153 (-6,13  $kcal \cdot mol^{-1}$ ), TYR328 (-1,64  $kcal \cdot mol^{-1}$ ), ILE324 (-3,96  $kcal \cdot mol^{-1}$ ), TRP295 (-3,96  $kcal \cdot mol^{-1}$ ) e ILE298 (-3,81  $kcal \cdot mol^{-1}$ ) (Figura 9, 10, 11 e Tabela 1).

As interações predominantes entre a morfina e o receptor  $\mu$ -opioide ( $\mu$ OR) incluem principalmente interações do tipo van der Waals, observadas em múltiplos resíduos como

TYR150, ILE324 e TRP295. As interações  $\pi$ -alquil e empilhamento  $\pi - \pi$  foram frequentes com ILE298, MET153 e TRP295. Ligações de hidrogênio foram predominantes com HIS299, enquanto ASP149 destacou-se pelas interações do tipo carga atrativa e ponte salina. Além disso, várias moléculas de água estabeleceram ligações de hidrogênio com diferentes anéis da morfina, contribuindo para a estabilidade da ligação.

De modo análogo, no complexo  $\mu\text{OR}::\text{FEN}$ , os resíduos de aminoácidos com menores energias de interação, logo maior atração, foram ASP149 ( $-11,05 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ ), TYR328 ( $-5,74 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ ), ILE324 ( $-5,69 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ ), ILE298 ( $-4,85 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ ), LYS235 ( $-4,64 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ ), ILE146 ( $-3,89 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ ), TRP320 ( $-2,95 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ ), TRP295 ( $-2,72 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ ), GLN126 ( $-2,69 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ ), HIS299 ( $-2,42 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ ), TRP135 ( $-2,30 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ ), MET153 ( $-1,84 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ ) e CYS142 ( $-1,75 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ ) (Figura 12, 13, 14 e Tabela 2). Além do mais, várias moléculas de água fizeram ligações de hidrogênio em diferentes anéis do fentanil, contribuindo para a estabilidade da ligação.

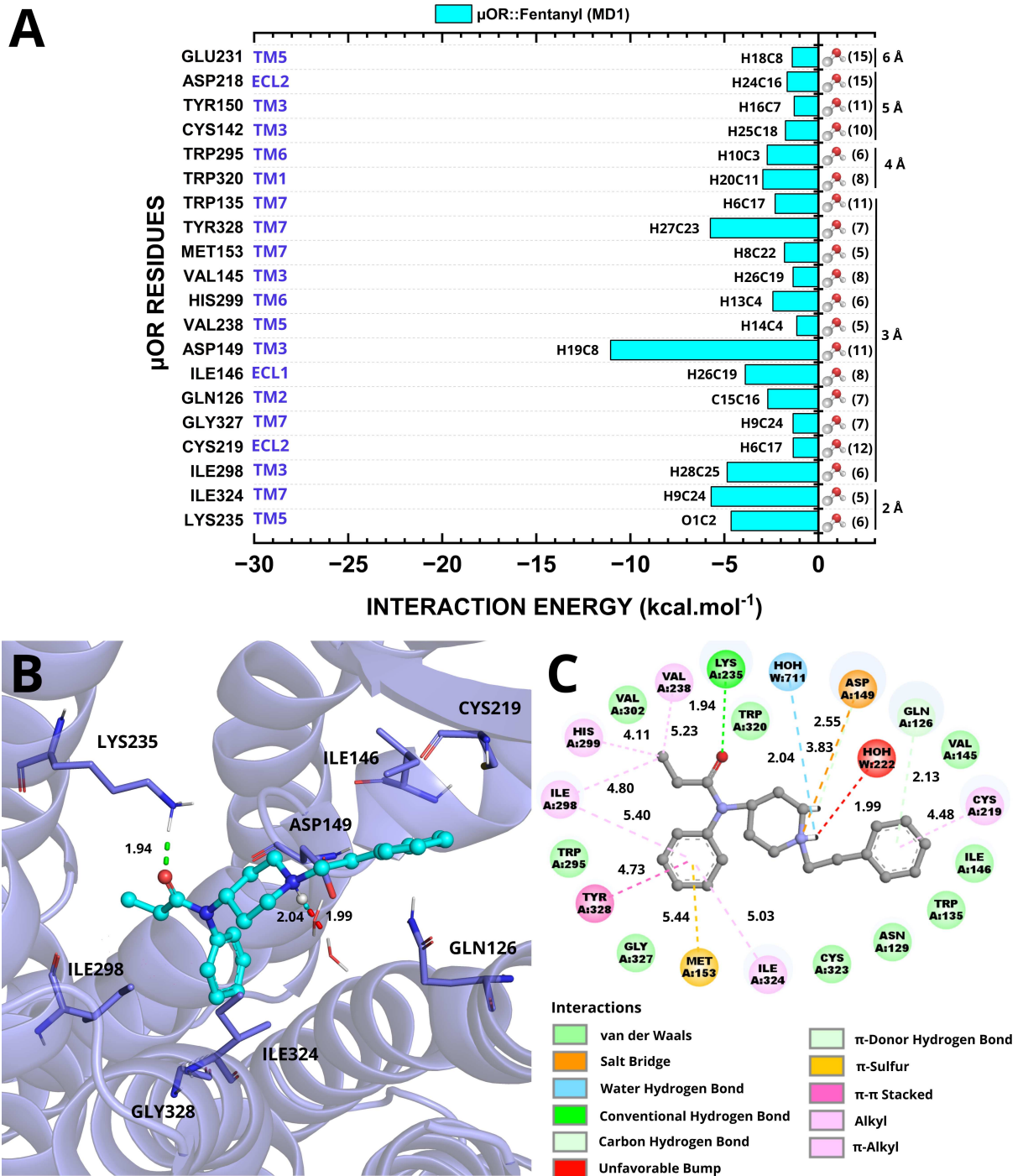
Nas três dinâmicas do  $\mu\text{OR}::\text{FEN}$ , as interações predominantes foram as do tipo van der Waals, observadas consistentemente em vários resíduos, incluindo ASN129, TYR150, GLY327, ILE146 e VAL145. Interações do tipo ponte salina com o resíduo ASP149, também foram frequentes em todas as dinâmicas. Interações do tipo alquil foram comuns, com resíduos como ILE298 e ILE324. As ligações de hidrogênio entre moléculas de água e o fentanil desempenharam um papel significativo, destacando-se em todas as dinâmicas. Além disso, as interações  $\pi - \pi$  (empilhamento  $\pi - \pi$  e empilhamento  $\pi - \pi$  em forma de T) apareceram com frequência, especialmente nas dinâmicas DM1 e DM3 (Figura 12, 13 e 14).

Comparando os resíduos com menores energias de interação nos dois complexos, constata-se que o ASP149 é o mais interativo em ambos os casos, seguido por outros resíduos que mostram alguma sobreposição, como HIS299, MET153, TYR328, ILE324, ILE298 e TRP295. No entanto, há diferenças significativas em alguns resíduos específicos, com LYS235, GLN126, ILE146 e TRP135 no complexo  $\mu\text{OR}::\text{FEN}$  que não foram identificados no  $\mu\text{OR}::\text{MOR}$  com menor energia de interação indicando diferentes padrões de interação para cada opioide (MOR e FEN) (Figura 9, 10, 11, 12, 13 e 14).

De modo consistente, no complexo  $\mu\text{OR}::\text{MOR}$ , os aminoácidos THR122, VAL238, TYR150, ASP149 e ILE146 formaram ligações de hidrogênio (Norouzi; Mirmohammadi; Tehrani, 2022) com água, fortalecendo a interação com a morfina. Já no sistema  $\mu\text{OR}::\text{FEN}$ , os resíduos ASP149, GLN126, ILE146, TYR328, TRP320 e LYS235 também estabeleceram essas

ligações, intensificando a interação com o fentanil (Norouzi; Mirmohammadi; Tehrani, 2022) (Figura 9, 10, 11, 12, 13 e 14).

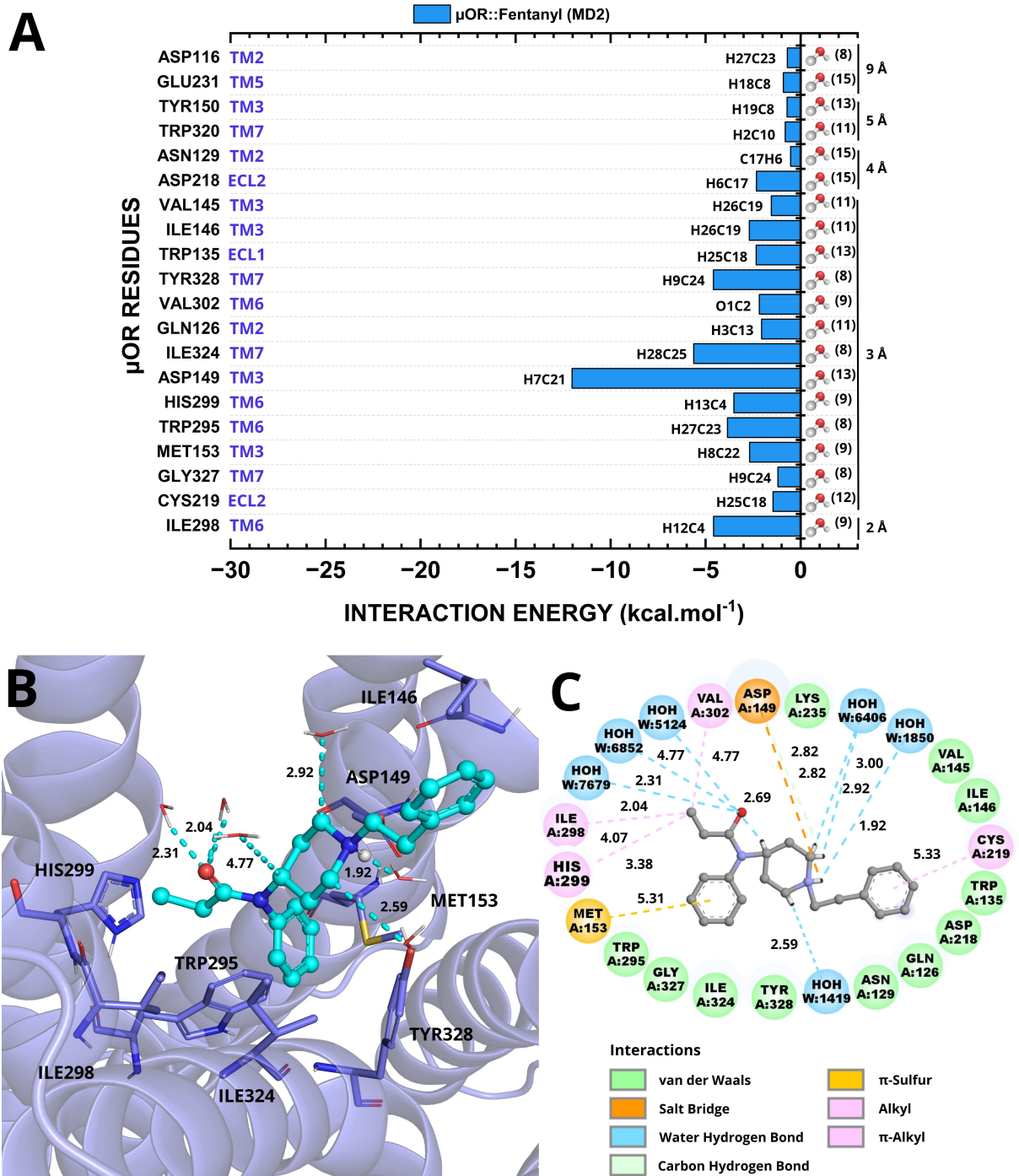
Figura 12 – Descrição das interações intermoleculares no complexo  $\mu\text{OR}::\text{FEN}$  (MD1). (A) Diagrama BIRD apresentando a energia de interação  $\text{kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$  dos 20 principais resíduos com o fentanil e as regiões da transmembrana (TM) do  $\mu\text{OR}$ . A distância de cada resíduo ao centroide da morfina é fornecida no lado direito do painel. Também são indicados os números de moléculas de água explícitas que participam da interação. (B) Ilustração 3D que ilustra os resíduos que se destacam por suas intensas interações energéticas com a morfina. (C) Interações não covalentes dentro de um raio de 10 Å do ligante, morfina, com as distâncias Å de cada interação listadas.



Fonte: Elaborada pelo autor.

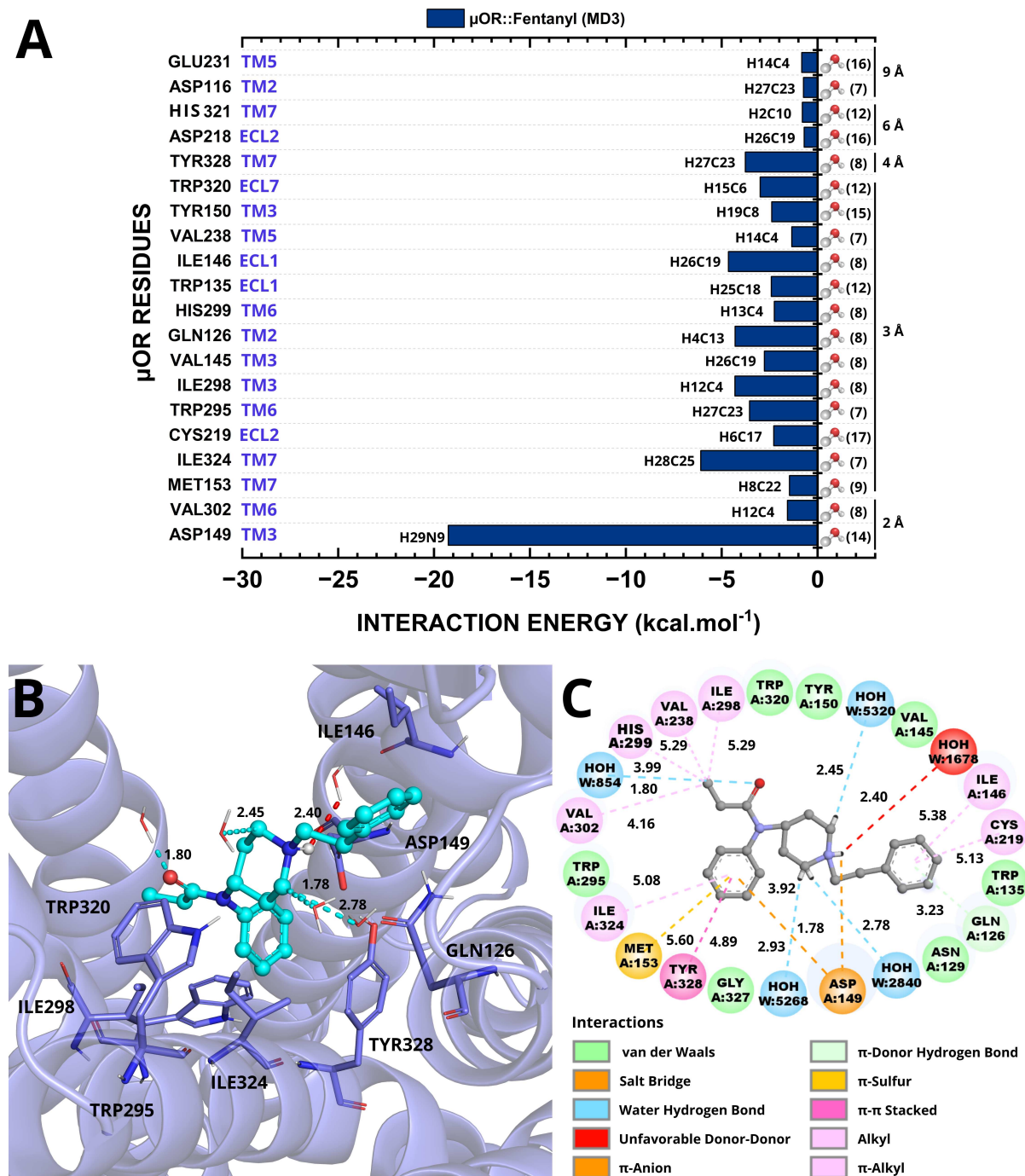


Figura 13 – Descrição das interações intermoleculares no complexo  $\mu\text{OR}::\text{FEN}$  (MD2). (A) Diagrama BIRD apresentando a energia de interação  $\text{kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$  dos 20 principais resíduos com o fentanil e as regiões da transmembrana (TM) do  $\mu\text{OR}$ . A distância de cada resíduo ao centroide da morfina é fornecida no lado direito do painel. Também são indicados os números de moléculas de água explícitas que participam da interação. (B) Ilustração 3D que ilustra os resíduos que se destacam por suas intensas interações energéticas com a morfina. (C) Interações não covalentes dentro de um raio de 10 Å do ligante, morfina, com as distâncias Å de cada interação listadas.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 14 – Descrição das interações intermoleculares no complexo  $\mu\text{OR}::\text{FEN}$  (MD3). (A) Diagrama BIRD apresentando a energia de interação  $\text{kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$  dos 20 principais resíduos com o fentanil e as regiões da transmembrana (TM) do  $\mu\text{OR}$ . A distância de cada resíduo ao centroide da morfina é fornecida no lado direito do painel. Também são indicados os números de moléculas de água explícitas que participam da interação. (B) Ilustração 3D que ilustra os resíduos que se destacam por suas intensas interações energéticas com a morfina. (C) Interações não covalentes dentro de um raio de 10 Å do ligante, morfina, com as distâncias Å de cada interação listadas.



Fonte: Elaborada pelo autor.

### 3.4 Interações de energia nos complexos $\mu\text{OR}::\text{MOR}$ e $\mu\text{OR}::\text{FEN}$

Em resumo, a morfina interage principalmente com ASP149, HIS299, TYR150, MET153, ILE324 e TRP295. As médias dos valores de energia de interação para estes resíduos foram de -13,49, -7,64, -6,43, -6,13, -3,96 e -3,96  $\text{kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ , com distâncias médias de 2,17, 1,96, 2,72, 2,32, 2,52 e 2,70 Å, respectivamente (Tabela 1) e (Figura 15A e 15B). Nas tabelas suplementares S5 - S7 no apêndice A estão detalhadas todas as interações energéticas entre os aminoácidos do  $\mu\text{OR}$  e a morfina, dentro de um raio de 10 Å.

Tabela 1 – Descrição quântica das principais interações do complexo  $\mu\text{OR}::\text{MOR}$ . Apresentam-se as médias das distâncias em Å para as três DMs e as energias de interação e suas respectivas médias (em  $\text{kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ ) de 20 resíduos do  $\mu\text{OR}$  com menor energia de interação pelo receptor  $\mu$ -opioide.

$\mu\text{OR}$ Residue	Distance (Å)	Interaction Energy (MD1) ( $\text{kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ )	Interaction Energy (MD2) ( $\text{kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ )	Interaction Energy (MD3) ( $\text{kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ )	Average Interaction Energy ( $\text{kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ )
HIS299	1,96	-7,59	-7,25	-8,07	-7,64
ASP149	2,17	-8,41	-18,16	-13,90	-13,49
ILE298	2,18	-3,11	-4,52	-3,79	-3,81
MET153	2,32	-5,24	-6,74	-6,42	-6,13
ILE324	2,52	-4,45	-4,04	-3,41	-3,96
GLY327	2,69	-2,49	-1,42	-1,58	-1,83
TRP295	2,70	-3,71	-4,34	-3,82	-3,96
TYR150	2,72	-6,14	-6,72	-6,43	-6,43
TYR328	2,81	-5,08	-2,86	-3,05	-3,66
VAL238	2,95	-1,40	-0,93	-1,04	-1,12
TRP320	3,20	-0,90	-1,58	-2,23	-1,57
ALA119	3,43	-1,68	-0,22	-0,22	-0,70
VAL302	3,46	-0,62	-1,14	-5,54	-2,43
ALA242	3,98	-0,46	-0,41	-0,42	-0,43
ASN152	4,42	-0,13	0,04	-0,58	-0,22
SER331	4,85	-0,69	-0,12	-0,12	-0,31
THR122	5,07	-0,05	-0,09	-0,06	-0,07
ASN330	5,44	-0,18	0,09	0,10	0,00
ASP116	6,28	-2,03	-1,35	-1,36	-1,58
THR120	6,36	-0,66	-0,13	-0,12	-0,30

Fonte: Elaborada pelo autor.

Por sua vez, o fentanil interage principalmente com ASP149, ILE324, TYR328, ILE298, ILE146 e TRP295. As médias dos valores de energia de interação para estes resíduos foram de -14,11, -5,81, -4,70, -4,58, -3,75 e -3,38 em  $\text{kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ , com distâncias médias de 2,29, 2,17, 2,60, 2,07, 2,48 e 2,65 em Å, respectivamente (Tabela 2) e (Figura 16A e 16B). Nas tabelas suplementares S8 - S10 no apêndice A estão detalhadas todas as interações energéticas

entre os aminoácidos do  $\mu$ OR e o fentanil, dentro de um raio de 10 Å.

Tabela 2 – Descrição quântica das principais interações do complexo  $\mu$ OR::FEN. Apresentam-se as médias das distâncias Å para as três DMs e as energias de interação e suas respectivas médias  $kcal \cdot mol^{-1}$  de 20 resíduos do  $\mu$ OR com menor energia de interação pelo receptor  $\mu$ -opioide.

$\mu$ OR Residue	Distance (Å)	Interaction Energy (MD1) ( $kcal \cdot mol^{-1}$ )	Interaction Energy (MD2) ( $kcal \cdot mol^{-1}$ )	Interaction Energy (MD3) ( $kcal \cdot mol^{-1}$ )	Average Interaction Energy ( $kcal \cdot mol^{-1}$ )
ILE298	2,07	-4,85	-4,59	-4,31	-4,58
ILE324	2,17	-5,70	-5,62	-6,09	-5,81
ASP149	2,29	-11,05	-12,03	-19,26	-14,11
CYS219	2,33	-1,34	-1,46	-2,29	-1,69
GLN126	2,40	-2,69	-2,06	-4,31	-3,02
ILE146	2,48	-3,89	-2,70	-4,65	-3,75
HIS299	2,50	-2,43	-3,51	2,78	-1,05
TYR328	2,60	-5,75	-4,59	-3,77	-4,70
TRP295	2,65	-2,73	-3,86	-3,55	-3,38
MET153	2,69	-1,80	-2,69	-1,47	-1,99
VAL145	2,74	-1,35	-1,54	-2,77	-1,89
TRP135	2,75	-2,31	-2,34	-2,42	-2,35
GLY327	3,01	-1,35	-1,20	-0,68	-1,08
TRP320	3,35	-2,96	-0,81	-2,99	-2,25
VAL238	3,46	-1,15	-0,28	-1,34	-0,93
TYR150	3,92	-1,29	-0,72	-2,40	-1,47
ASP218	3,95	-1,66	-2,32	-0,70	-1,56
CYS142	4,96	-1,75	-0,02	-0,34	-0,70
LYS235	5,03	-4,64	0,06	0,42	-1,39
GLU231	5,83	-1,39	-0,91	-0,83	-1,04

Fonte: Elaborada pelo autor.

### 3.4.1 Regiões do $\mu$ OR com menores energias de interação

Ao analisar os resíduos do  $\mu$ OR em interação com a morfina, destaca-se a região TM7 com a maior quantidade de resíduos com as menores energias de interação, totalizando seis resíduos: ILE324, TYR328, GLY327, TRP320, SER331 e ASN330 (Figura 15). A predominância de resíduos de baixa energia de interação nesta região indica que TM7 é altamente estável e crucial para a interação da morfina com o  $\mu$ OR.

Além disso, as regiões TM3 e TM6 também apresentam uma quantidade significativa de resíduos de baixa energia de interação, cada uma com quatro resíduos exibindo forte interação, a saber, ASP149, TYR150, MET153 e ASN152, com ASP149 exibindo a menor energia, igual a  $-13,49 kcal \cdot mol^{-1}$  em TM3 e HIS299, TRP295, ILE298 e VAL302 em TM6 (Figura 15 e

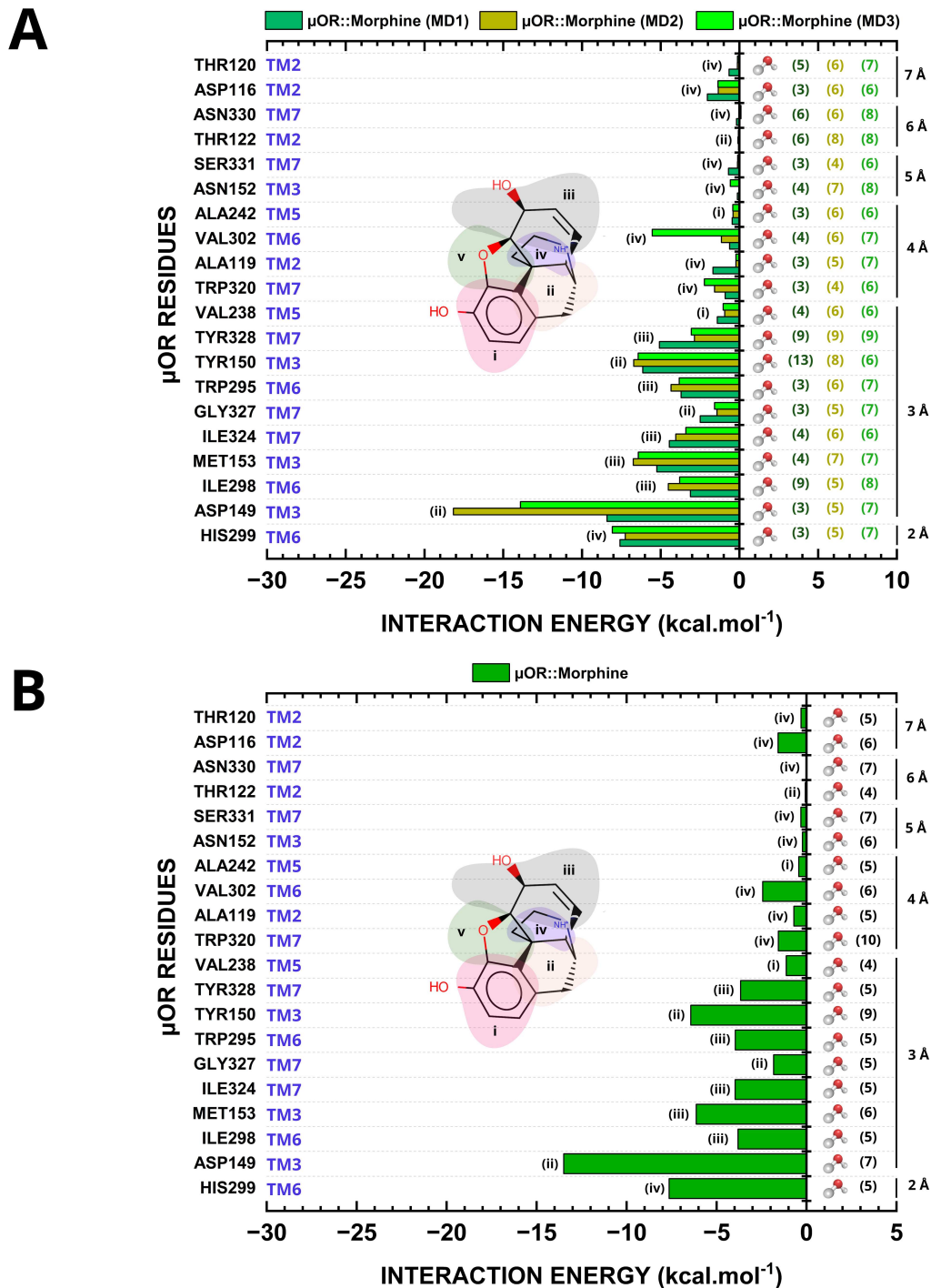
Tabela 3). Nesse sentido, a presença de múltiplos resíduos de baixa energia de interação nessas regiões indica que TM3 e TM6 são essenciais para a estabilidade do complexo  $\mu\text{OR}::\text{MOR}$ . Em complemento, no sistema  $\mu\text{OR}::\text{MOR}$ , a hélice com menor energia de interação, logo maior atratividade foi a TM3, seguida por TM6 e TM7, respectivamente.

Com relação ao fentanil em interação com o  $\mu\text{OR}$ , as regiões TM3 e TM7 emergem como as mais importantes, a primeira com seis resíduos (ASP149, ILE146, VAL145, MET153, CYS142, e TY150) apresentando energias de interação negativas, logo com maior atratividade, com ASP149 novamente mostrando a menor energia da lista ( $-14,11 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ ). Na hélice TM7, os resíduos são: ILE324, GLY327, TYR328, TRP320. Ademais, em TM6 destacou-se: ILE298, TRP295 e HIS299 (Figura 16 e Tabela 4). Consequentemente, a existência de vários resíduos cruciais para interação da droga com a proteína nessas regiões reforça a ideia de que tanto TM3 quanto TM7 são fundamentais para a estabilidade do complexo  $\mu\text{OR}::\text{FEN}$ .

De modo análogo através dos dados apresentados nas Tabelas 3 e 4, as áreas do  $\mu\text{OR}$  mais ativadas pela morfina foram TM3, TM6 e TM7. No caso do fentanil em interação com o receptor  $\mu$ -opioide, além dos resíduos das regiões TM3, TM6 e TM7 que apresentaram as interações mais fortes, as regiões TM2 e TM5 também mostraram interações significativas, diferentemente do observado no complexo  $\mu\text{OR}::\text{MOR}$ . Para ambos os complexos, TM3 foi a mais ativada pela presença dos opioides, destacando sua importância para a estabilidade do  $\mu\text{OR}$  quando ligado tanto à morfina quanto ao fentanil.

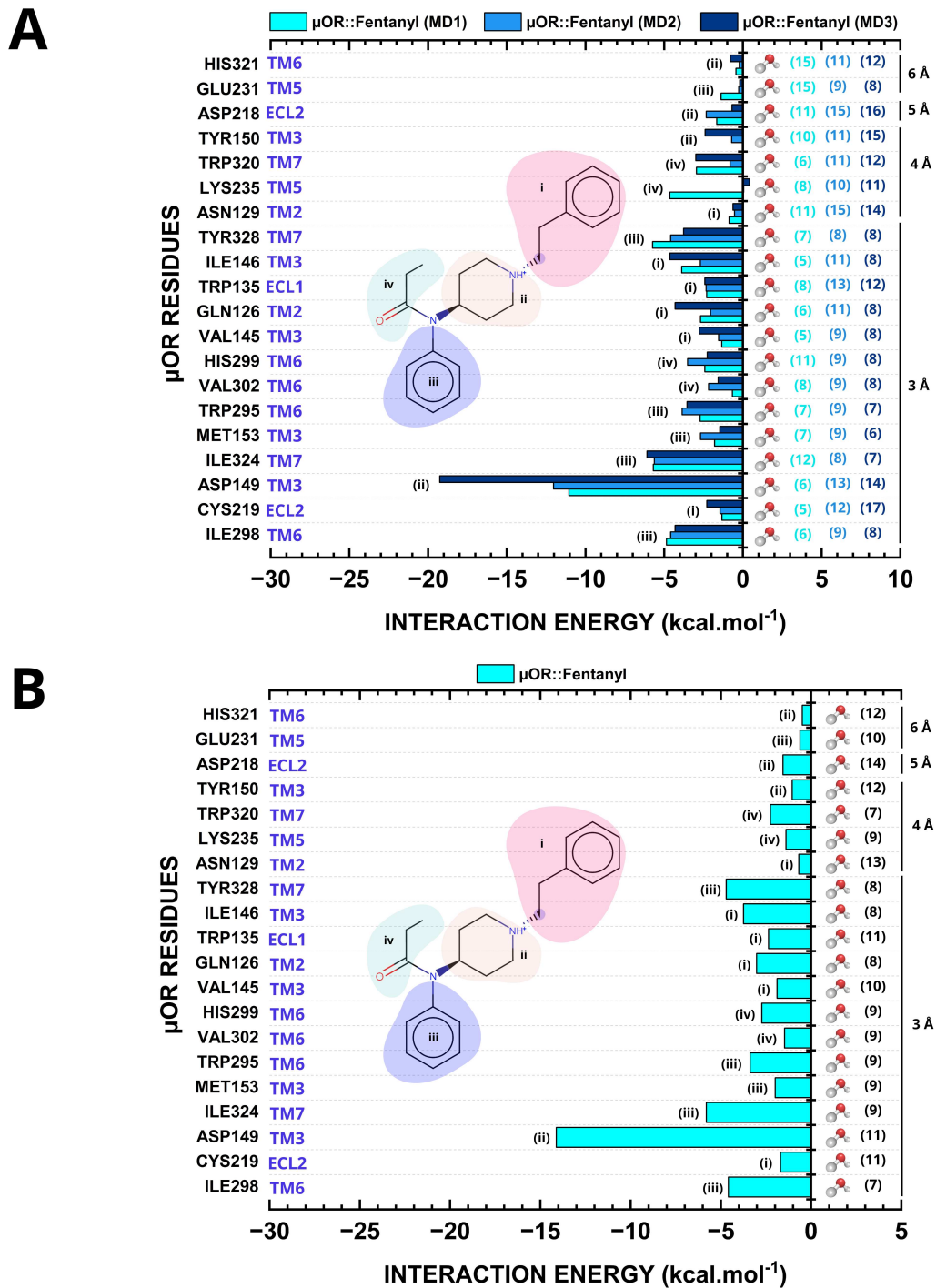
Em suma, o aminoácido ASP149 da região TM3 destaca-se devido à forte interação em ambos os complexos  $\mu\text{OR}::\text{MOR}$  e  $\mu\text{OR}::\text{FEN}$ , formando uma ponte salina com o anel piperidina da morfina e do fentanil. No primeiro sistema, o resíduo HIS299 de TM6 também se destaca devido à forte interação, fazendo ligação de hidrogênio com o anel aromático da morfina. Além disso, no segundo complexo, LYS235 faz ligação de hidrogênio com o grupo amida do fentanil, apresentando forte interação (Figura 16).

Figura 15 – Resultados da bioquímica quântica para o complexo  $\mu\text{OR}::\text{MOR}$ . (A) Diagrama BIRD apresentando a energia de interação  $\text{kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$  dos 20 principais resíduos com a morfina e as regiões da transmembrana (TM) do  $\mu\text{OR}$ . (B) Painel mostrando a média da energia de interação dos resíduos do  $\mu\text{OR}$  com a morfina. O raio de cada resíduo ao centroide da MOR é fornecido no lado direito do painel. Também são indicados os números de moléculas de água explícitas que participam da complexação.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 16 – Resultados da bioquímica quântica para o complexo  $\mu\text{OR}::\text{FEN}$ . (A) Diagrama BIRD apresentando a energia de interação  $\text{kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$  dos 20 principais resíduos com o fentanil e as regiões da transmembrana (TM) do  $\mu\text{OR}$ . (B) Painel mostrando a média da energia de interação dos resíduos do  $\mu\text{OR}$  com o fentanil. O raio de cada resíduo ao centroide do FEN é fornecido no lado direito do painel. Também são indicados os números de moléculas de água explícitas que participam da complexação.



Fonte: Elaborada pelo autor.

### 3.4.2 Mapeamento das hélices da transmembrana de maior ativação dos complexos $\mu\text{OR}::\text{MOR}$ e $\mu\text{OR}::\text{FEN}$

Nas simulações de DM do complexo  $\mu\text{OR}::\text{MOR}$ , observou-se uma distribuição consistente dos resíduos de aminoácidos com menor energia de interação em regiões transmembranas (TM) do  $\mu\text{OR}$ . Convém ressaltar que apenas os resíduos mais importantes com menores energias de interação serão demonstrados, já que o  $\mu\text{OR}$  é composto por vários outros resíduos que não demonstraram energia de interação fortes.

Em DM1, os resíduos com menor energia de interação de TM6 foram HIS299, ILE298 e TRP295, enquanto na região TM7 destacaram-se ILE324 e TYR328. Na hélice TM3, as menores energias foram observadas em MET153, ASP149 e TYR150. Analogamente, na DM2 as interações mais fortes foram identificadas com os mesmos resíduos de DM1 em TM6 (HIS299, ILE298 e TRP295) e em TM7 (ILE324 e TYR328). Em TM3, as interações mais fortes foram com os aminoácidos ASP149, ILE146 e MET153. Na DM3, os resíduos da TM6 que apresentaram menor energia de interação ao interagir com a morfina foram HIS299, VAL302, ILE298 e TRP295. De modo análogo, em TM7, apenas ILE324 foi importante para a interação com a morfina, apresentando a menor energia de interação. Os resíduos ASP149, TYR150 e MET153 de TM3 também apresentaram energia de interação forte. Esses resultados destacam uma consistência notável na distribuição desses resíduos interativos ao longo das diferentes dinâmicas, evidenciando que as regiões TM3, TM6 e TM7 concentram a maior quantidade de resíduos interativos no complexo  $\mu\text{OR}::\text{MOR}$  (Figura 17A e Figuras 18A, 18B e 18C).

A respeito da DM1 do complexo  $\mu\text{OR}::\text{FEN}$ , os resíduos ILE298, HIS299 e TRP295 da TM6, juntamente com LYS235 e VAL238 da TM5, apresentaram uma forte interação com o fentanil. Por sua vez, em TM7, os aminoácidos que se destacaram pelas menores energias de interação foram ILE324, TRP320 e TYR328. O resíduo ASP149 de TM3 também mostrou forte atratividade com o FEN, tendo alcançado um valor de  $-11,05 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ . Notavelmente, as regiões TM3 e TM7 apresentaram a maior concentração de resíduos interativos. Na dinâmica DM2, os aminoácidos com menores energias de interação foram HIS299, ILE298 e TRP295 de TM6, enquanto de TM7, somente ILE324 e TYR328 tiveram menor energia de interação. Ademais, na hélice TM3 os resíduos ASP149, ILE146 e MET153 também apresentaram fortes energias de interação. Assim como na DM1, TM3 e TM6 exibiram a maior quantidade de resíduos interativos. Na DM3, os resíduos ILE298 e TRP295 de TM6 e TRP320, ILE324 e TYR328 de TM7 apresentaram interações mais fortes. Ademais, GLN126 de TM2, ASP149 e



ILE146 de TM3 também apresentaram fortes interações, logo com menores energias de interação. Por sua vez, TM7 foi a região com a maior concentração de resíduos interativos (Figura 17B) e (Figura 18D, 18E e 18F).

Comparando os resultados dos complexos  $\mu\text{OR}::\text{MOR}$  e  $\mu\text{OR}::\text{FEN}$ , observa-se que vários resíduos são comuns aos dois ligantes devido as interações mais fortes. Dito de outra forma, os resíduos ILE298 e TRP295 de TM6, ILE324 e TYR328 de TM7, e ASP149 de TM3 interagiram fortemente em ambos os complexos, destacando a importância desses resíduos na interação com os ligantes devido a menor energia de interação (Figura 17A e 17B). No entanto, algumas diferenças foram observadas, como o resíduo LYS235 de TM5 no complexo  $\mu\text{OR}::\text{FEN}$  e do resíduo ILE146 de TM3 que apresentaram forte interação nesse complexo, mas não foram identificados no sistema  $\mu\text{OR}::\text{MOR}$  demonstrando uma ligação forte (Figura 17B).

Tabela 3 – Média de energia de interação dos resíduos mais interativos nas hélices transmembranares do  $\mu\text{OR}::\text{MOR}$ .

Hélices do $\mu\text{OR}$	Resíduos	Energia de Interação da Hélice ( $\text{kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ )
TM1	-	-
TM2	ASP116, ALA119, THR120, THR122	-2,65
TM3	ASP149, TYR150, MET153, ASN152	-26,27
TM4	-	-
TM5	VAL238	-1,12
TM6	HIS299, TRP295, ILE298, VAL302	-17,78
TM7	ILE324, TYR328, GLY327, TRP320, SER331, ASN330	-11,33

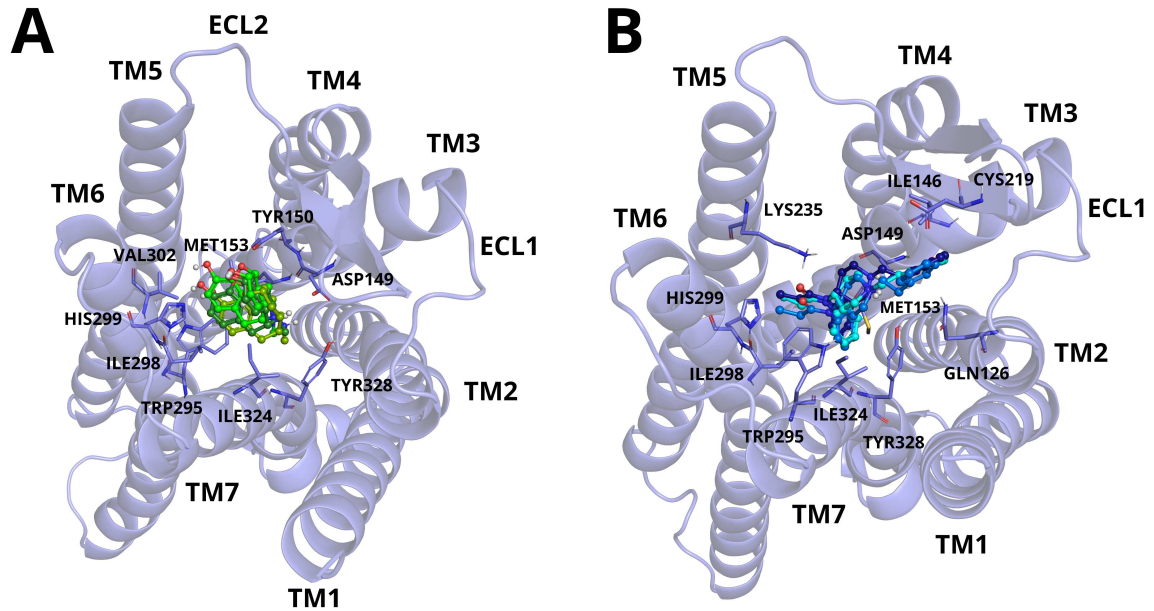
Fonte: Elaborada pelo autor.

Tabela 4 – Média de energia de interação dos resíduos mais interativos nas hélices transmembranares do  $\mu\text{OR}::\text{FEN}$ .

Hélices do $\mu\text{OR}$	Resíduos	Energia de Interação Hélice ( $\text{kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ )
TM1	-	-
TM2	GLN126	-3,02
TM3	ASP149, ILE146, VAL145, MET153, CYS142, TY150	-23,91
TM4	-	-
TM5	LYS235, VAL238, GLU231	-2,43
TM6	ILE298, TRP295, HIS299,	-9,01
TM7	ILE324, GLY327, TYR328, TRP320	-13,84

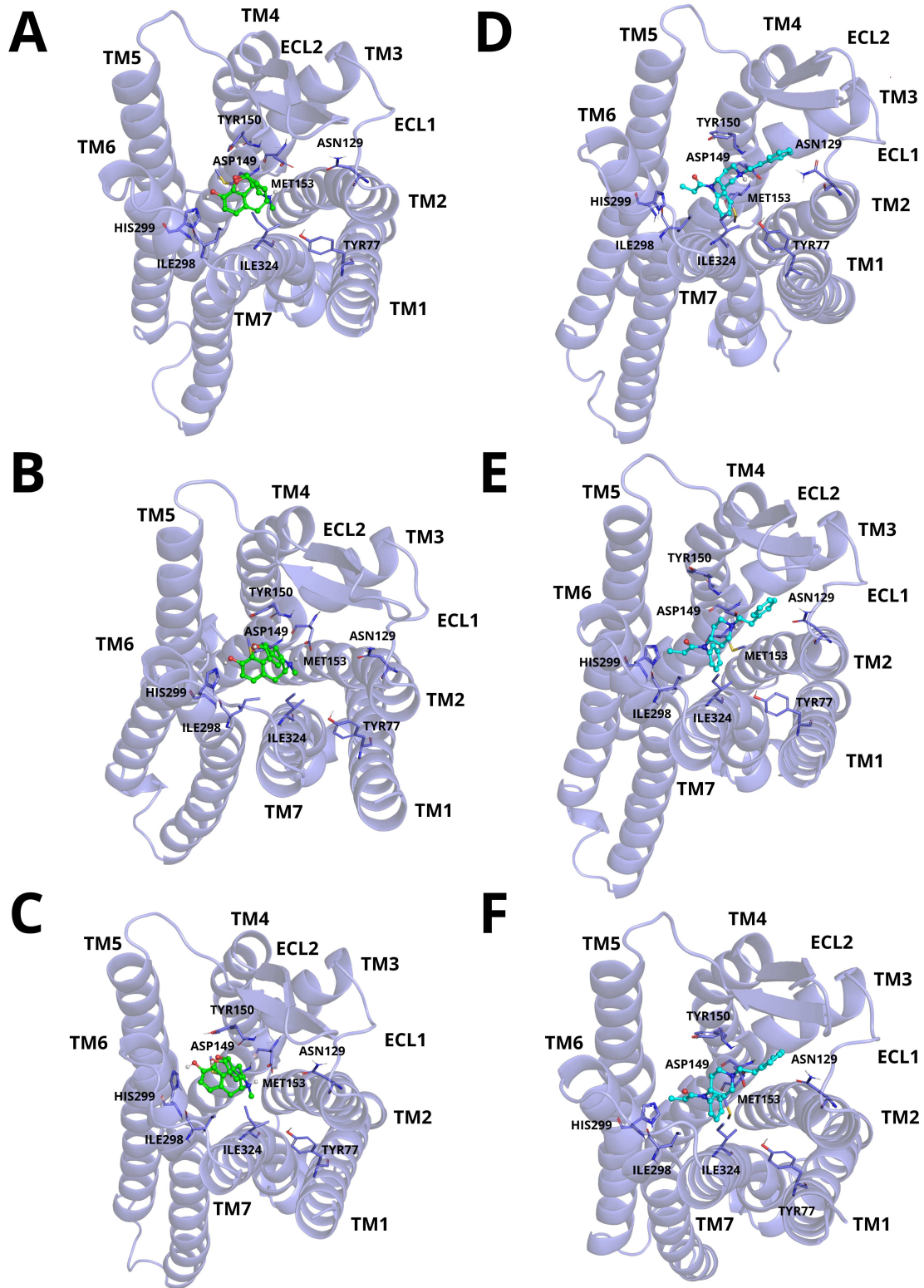
Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 17 – Sobreposição da conformação final extraída de cada dinâmica das estruturas do  $\mu$ OR (azul ardósia escuro) ligadas à morfina (verde) e ao fentanil (ciano), evidenciando as regiões das transmembranas (TM) e alças extracelulares (ECLs). (A) MOR interagindo com os resíduos de aminoácidos mais interativos do  $\mu$ OR. (B) FEN interagindo com os resíduos de aminoácidos mais interativos do  $\mu$ OR.



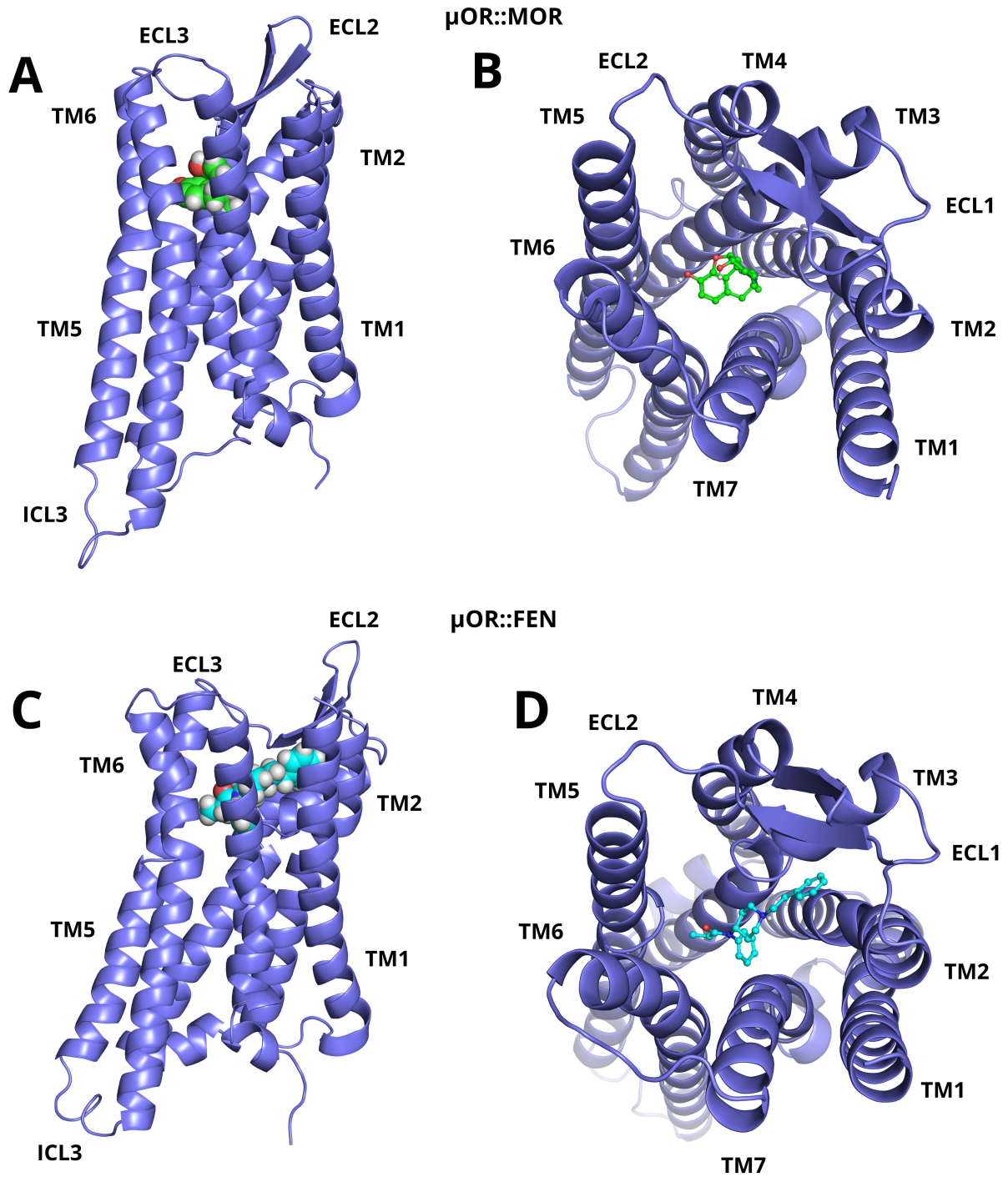
Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 18 – Mapeamento das regiões da transmembrana (TM) e alças extracelulares (ECLs) do  $\mu$ OR (azul ardósia escuro) interagido com a morfina (verde) e o fentanil (ciano) nas suas dinâmicas moleculares DM1, DM2 e DM3. (A - C) mostram os resíduos mais interativos com a MOR. (D - F) destacam os resíduos mais interativos o FEN. Os aminoácidos do sítio de interação do  $\mu$ OR com menores energia de ligação com os ligantes são coloridos por azul ardósia escuro.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 19 – Descrição das hélices transmembranares (TMs), alças intracelulares e extracelulares (ICLs) e (ECLs) do  $\mu$ OR. (A) e (C) representam a morfina e o fentanil ligados ao receptor  $\mu$ -opioide. (B) e (D) mostram os ligantes no sítio ortostérico do  $\mu$ OR.



Fonte: Elaborada pelo autor.

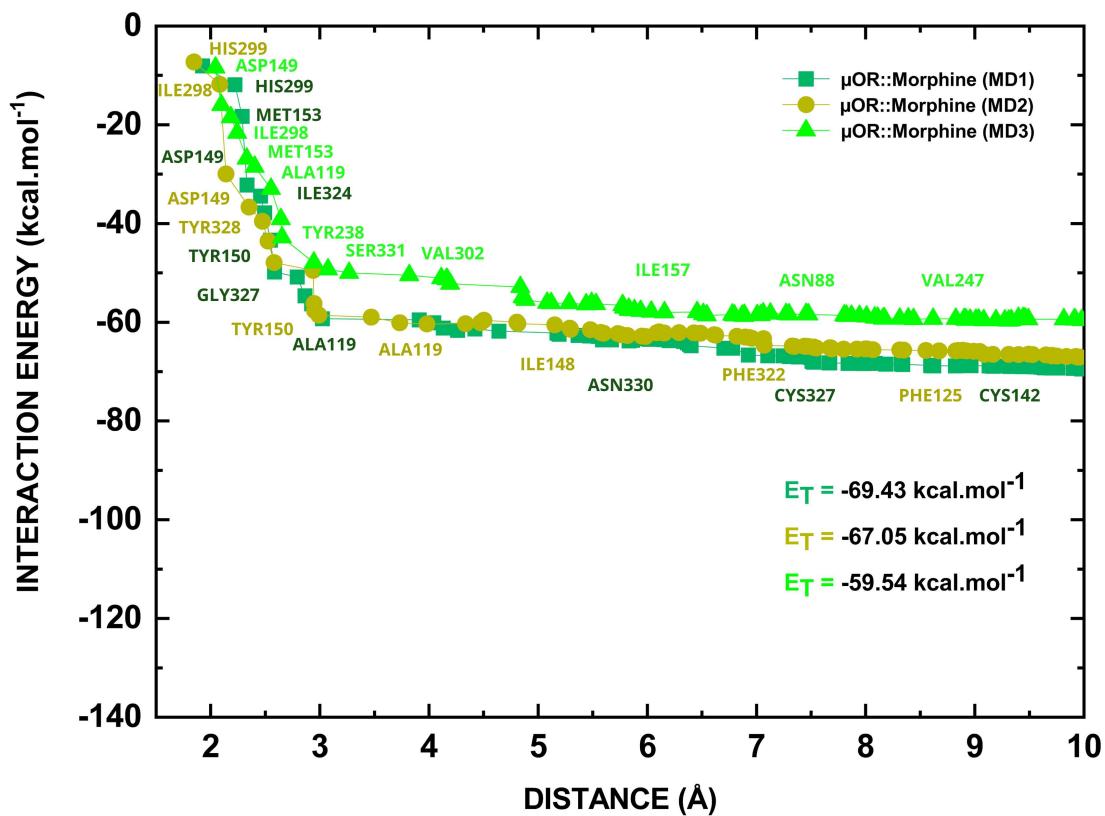
### 3.4.3 Energia de interação dos complexos $\mu\text{OR}::\text{MOR}$ e $\mu\text{OR}::\text{FEN}$

No complexo  $\mu\text{OR}::\text{MOR}$ , a energia total de interação estabilizou-se em um raio de 3,5 Å, considerando as três simulações de dinâmica molecular (Figura 16). O complexo  $\mu\text{OR}::\text{MOR}$  teve uma soma de energias de interação total  $E_T$  de -69,43, -67,05 e -59,54  $\text{kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$  para DM1, DM2 e DM3, considerando os aminoácidos com distância de até 10 Å. Comparativamente, o complexo  $\mu\text{OR}::\text{MOR}$  extraído da DM1 apresentou a menor energia de interação em relação aos complexos  $\mu\text{OR}::\text{MOR}$  extraído da DM2 e  $\mu\text{OR}::\text{MOR}$  extraído da DM3, com uma diferença entre DM1 e DM2 de -2,38  $\text{kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$  e entre DM1 e DM3 de -9,89  $\text{kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ . A média da soma das energias de interação do sistema  $\mu\text{OR}::\text{MOR}$  foi de -65,34  $\text{kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$  (Figura 20).

De modo análogo, considerando o complexo  $\mu\text{OR}::\text{FEN}$ , observa-se uma diminuição acentuada na energia de interação a 3,5 Å nas dinâmicas nas DM1, DM2 e DM3, assim, apresentando interações mais fortes nessa distância (Figura 21), seguindo um padrão de estabilidade semelhante a partir desse valor. No complexo  $\mu\text{OR}::\text{FEN}$  em DM1, houve uma redução significativa de energia próxima uma distância de 5,5 Å do fentanil, seguida de estabilização a 9 Å. A energia de interação total ( $E_T$ ) do complexo  $\mu\text{OR}::\text{FEN}$  a 10 Å, o foi de -69,56  $\text{kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ , -47,63  $\text{kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$  e -74,21  $\text{kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$  para DM1, DM2 e DM3, respectivamente. Comparativamente, o complexo  $\mu\text{OR}::\text{FEN}$  extraído de DM3 apresentou a menor energia de interação em relação aos demais sistemas, com uma diferença entre DM2 e DM3 de -26,58  $\text{kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$  e de -4,65  $\text{kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$  entre DM1 e DM3. A média da soma das energias de interação entre o FEN e o  $\mu\text{OR}$  foi de -63,80  $\text{kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$  (Figura 21).

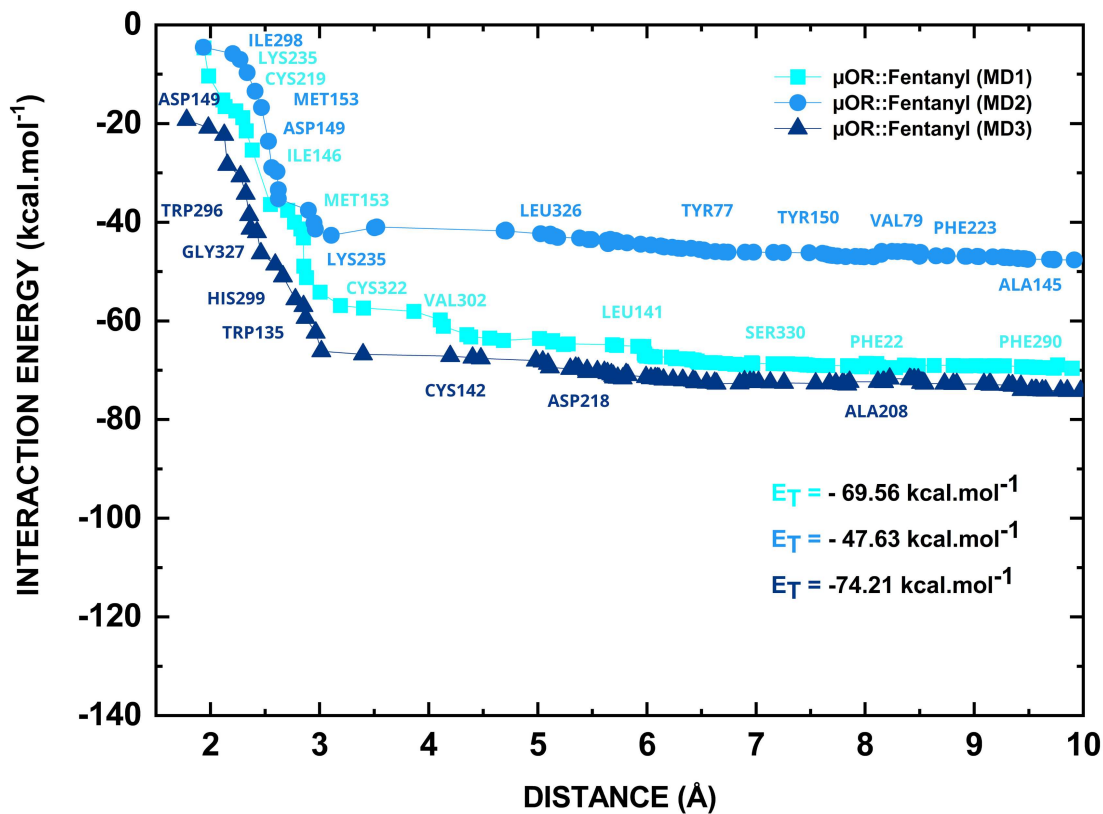
Os resultados demonstram que nos complexos  $\mu\text{OR}::\text{MOR}$ , o DM1 se destaca como o mais estável em termos de energia de interação entre os três modos de ligação. De forma análoga, entre os complexos  $\mu\text{OR}::\text{FEN}$ , o DM3 revela-se mais estável, sugerindo uma interação mais forte do fentanil com o receptor  $\mu\text{OR}$ . Entretanto, ao analisar as médias das energias totais ( $E_T$ ), o sistema  $\mu\text{OR}::\text{MOR}$  apresenta uma energia de interação mais negativa em comparação ao complexo  $\mu\text{OR}::\text{FEN}$ . Além disso, a diferença média das energias de interação entre os complexos  $\mu\text{OR}::\text{MOR}$  e  $\mu\text{OR}::\text{FEN}$  ao longo das três dinâmicas foi de -1,54  $\text{kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ , com a morfina exibindo uma menor energia de interação com o receptor  $\mu\text{OR}$ , indicando, portanto, uma interação mais forte.

Figura 20 – Perfil de energia total da interação  $E_T$  entre a morfina e os resíduos do  $\mu$ OR em função do raio do sítio de ligação. O gráfico apresenta a soma das energias obtidas nas dinâmicas DM1 (verde limão), DM2 (amarelo forte) e DM3 (verde claro). Os principais resíduos de acordo com as distâncias são identificados no gráfico.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 21 – Perfil de energia total da interação  $E_T$  entre o fentanil e os resíduos do  $\mu$ OR em função do raio do sítio de ligação. O gráfico apresenta a soma das energias obtidas nas dinâmicas DM1 (ciano), DM2 (azul claro) e DM3 (azul escuro). Os principais resíduos de acordo com as distâncias são identificados no gráfico.



Fonte: Elaborada pelo autor.

## 4 DISCUSSÃO

A overdose de opioides, especialmente de fentanil, tem se tornado uma crise de saúde pública, ceifando inúmeras vidas anualmente (Che *et al.*, 2021; Lešnik *et al.*, 2023; Lu *et al.*, 2023). Em 2021, os Estados Unidos enfrentaram uma crise devastadora de overdose, com mais de 100.000 mortes registradas ao longo do ano. Uma grande parte dessas fatalidades foi atribuída aos opioides sintéticos, como o fentanil e seus derivados – acetil fentanil, carfentanil e lofentanil –, que são conhecidos por serem extremamente potentes (Zhuang *et al.*, 2022; Mattson *et al.*, 2021; Ringuette *et al.*, 2020; Lešnik *et al.*, 2023; Mattson *et al.*, 2021; Lu *et al.*, 2023; Mahinthichaichan *et al.*, 2023; Arita *et al.*, 2024).

Morfina e fentanil, ambos opioides utilizados no alívio da dor, apresentam efeitos colaterais como depressão respiratória e dependência, o que limita seu uso terapêutico (Dalal; Bruera, 2019; Zarin *et al.*, 2023; Arita *et al.*, 2024). Portanto, é fundamental compreender o modo de ligação desses opioides ao receptor  $\mu$ -opioide e suas interações interfaciais a nível molecular, visto que o  $\mu$ OR é bastante suscetível aos efeitos analgésicos e a diversos opioides (Lamber, 2023; Lambert, 2023).

Considerando primeiramente o escore de ancoragem, que avalia a qualidade da interação entre pequenas moléculas e proteínas (Li; Fu; Zhang, 2019; Bugnon *et al.*, 2024), é crucial ressaltar que, além desse parâmetro, o RMSD também desempenha um papel fundamental em estudos de ancoragem molecular. Diversos estudos indicam que obter um RMSD igual ou inferior a 1,0 Å é essencial para prever com precisão a melhor orientação de ajuste de um ligante em uma proteína (Lipiníski *et al.*, 2019; Zhuang *et al.*, 2022; Ellis *et al.*, 2018). Dessa forma, considerando as pontuações de escore e o RMSD, que foi usado para medir a diferença entre os modo de ligação preditas e a estrutura de referência (dados cristalográficos) (Lipiníski *et al.*, 2019; Zhuang *et al.*, 2022; Ricarte; Dalton; Giraldo, 2021), o método Haddock demonstrou-se mais adequado para estudar as interações da morfina com o  $\mu$ OR, devido ao menor valor de RMSD obtido, sendo igual a 1,0 Å para a pose 2 com um escore de ancoragem de  $-39,7 \pm 0,5$  kcal · mol<sup>-1</sup> (Figura 4). Pelo Vina, a melhor pontuação foi de  $-7,5$  kcal · mol<sup>-1</sup> com um RMSD igual a 1,4 Å.

Por sua vez, os cálculos de ancoragem direcionados ao complexo  $\mu$ OR::Fentanil, indicaram que o método Vina demonstrou maior precisão na predição das interações, devido ao menor RMSD (1,0 Å) para a pose 2 com um escore de  $-9,0$  kcal · mol<sup>-1</sup> (Figura 5). O método Haddock também demonstrou precisão, uma vez que se obteve RMSD igual a 1,1 Å para a pose



4 com a pontuação de escore igual a  $-55,7 \pm 2,4 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$  (Figura 5). Ademais, um RMSD baixo indica que o modelo gerado está muito próximo da estrutura experimental, sugerindo uma alta confiabilidade da orientação do ligante prevista (Zhuang *et al.*, 2022; Podlewska *et al.*, 2020; Huang *et al.*, 2015; Ellis *et al.*, 2018; Trott; Olson, 2010; Lipiníski *et al.*, 2019).

Esses resultados sugerem que o método de escore com a ferramenta Haddock pode ser útil para investigar derivados da morfina, especialmente em casos onde as estruturas cristalográficas ainda não foram resolvidas. Além disso, o AutoDock Vina mostrou potencial para estudar derivados do fentanil sem estrutura cristalográfica resolvida, o que indica sua aplicabilidade em etapas iniciais de estudos computacionais voltados ao desenvolvimento de novas drogas com maior especificidade para o  $\mu$ OR.

Mediante o presente estudo, foi possível identificar que o fentanil ( $\Delta$ RMSD = 0,61 Å) é mais estável que a morfina ( $\Delta$ RMSD = 0,87 Å), devido a menor variação de RMSD (Figura 6B e 6D). Curiosamente, estudos realizados por Zhuang e colaboradores (2022) usando simulações de 500 ns mostraram que a morfina tem maior estabilidade estrutural que o fentanil, não apresentando tantas variações durante as dinâmicas moleculares, não obstante, vale ressaltar que Zhuang e colaboradores (2022) usaram os campos de força FF19SB, LIPID17 e GAFF2 para os parâmetros de aminoácidos, lípidos e ligantes, respectivamente, o que pode explicar a diferença com os nossos resultados, uma vez que usamos em nossas DMs o campo de força CHARMM36 para aminoácidos, lípidos, água e agonistas (MOR e FEN), visto que CHARMM36 é amplamente utilizado em modelagem e simulações moleculares (Yu; Klauda, 2020; Giannos *et al.*, 2021; Lee *et al.*, 2016; Gutiérrez *et al.*, 2016; Huang *et al.*, 2017; Klauda *et al.*, 2010; Angladon *et al.*, 2019; Vo *et al.*, 2021).

O receptor  $\mu$ OR, em nossas simulações, mostrou algumas alterações conformacionais, como esperado, visto que é uma proteína altamente dinâmica (Ricarte; Dalton; Giraldo, 2021; Kapoor *et al.*, 2017; Koehl *et al.*, 2018). Nesse sentido, constatou-se que o  $\mu$ OR apresentou estabilidade similar ao interagir com ambos os ligantes (morfina e fentanil), com variações médias  $\Delta$ RMSD de 0,33 Å e 0,45 Å, respectivamente (Figura 6A e 6C), calculadas no intervalo entre 5 - 100 ns. No entanto, os mecanismos de ligação divergem entre os dois opioides (Zhuang *et al.*, 2022; Vo *et al.*, 2021; Convertino *et al.*, 2015). Pelas DMs de 100 ns, observando a Figura 6, o  $\mu$ OR é estável em 2,5 Å, evidenciando que não há grandes variações estruturais não convencionais no complexo (Serohijos *et al.*, 2011). Convém ressaltar que Serohijos e colaboradores (2011), realizaram simulações de dinâmica molecular de apenas 20 ns e encontraram

resultados semelhantes, relatando que o  $\mu$ OR estabiliza com um RMSD dentro de 3,5 Å. Os nossos resultados mostram uma estabilização abaixo desse valor, podendo ser explicado pelo maior tempo de simulação, campo de força CHARMM36 e o modelo de água TIP3P utilizado, visto que Serohijos e colaboradores (2011), fizeram uso do campo de força Gromos96 e o modelo de água baseado em SPC (Simple Point Charge). Não obstante, visto que as variações de RMSD obtidas neste estudo são inferiores a 1,00 Å, que é considerado o limite ideal para indicar que um complexo está em equilíbrio dinâmico (Guterres; Im, 2020), os sistemas  $\mu$ OR::MOR e  $\mu$ OR::FEN apresentam uma boa estabilidade estrutural. Ademais, vale salientar que este padrão de estabilidade é consistente com os resultados de pesquisas anteriores sobre os modos de ligação da MOR e do FEN ao receptor  $\mu$ -opioide, nas quais valores de RMSD semelhantes foram registrados (Ricarte; Dalton; Giraldo, 2021; Zhuang *et al.*, 2022; Lipiniski *et al.*, 2019; Vo *et al.*, 2021).

Os valores de RMSF obtidos para os átomos da cadeia  $\alpha$  do  $\mu$ OR indicam que os padrões de flexibilidade são semelhantes, com picos de elevação principalmente nas alças intracelulares (ICLs) e extracelulares (ECLs), enquanto as hélices transmembranares (TM) são mais rígidas, evidenciada por baixos picos de elevação (Figura 7A e 7B). Isso indica uma resposta estável do receptor  $\mu$ OR à presença da morfina e do fentanil. Complementar a isso, as regiões que apresentaram maior variação foram as ICL2, ECL2, ICL3 e ECL3, o que também foi relatado por Sader, Anant, Wu (2018), enquanto TM1, TM2, TM3, TM4, TM5, TM6 e TM7 mostraram-se mais rígidas durante as simulações (Sader; Anant; Wu, 2018). Serohijos e colaboradores (2011), estudando a interação da morfina com o  $\mu$ OR, verificaram picos de elevação semelhantes, destacando que picos elevados de RMSF podem sugerir regiões mais flexíveis, enquanto mais baixos indicam áreas mais rígidas (Serohijos *et al.*, 2011; Martínez, 2015; Arita *et al.*, 2024). Em complemento, Convertino e colaboradores (2015) também destacaram que ECL3 apresenta um alto pico de elevação, apresentando maior flexibilidade em simulações de DM, para a morfina em interação com o  $\mu$ OR.

Pelos cálculos de mecânica quântica, ASP149, HIS299, ILE298, ILE324, TRP295, TYR150 e TYR328 fazem parte do grupo de aminoácidos que interagem fortemente com a morfina, o que tem relação direta com a baixa flutuação estrutural ao longo das dinâmicas (Figura 7A). De modo análogo, essa relação também foi observada com ASP149, ILE324, ILE298, TYR328, ILE146, TRP295 e GLN126 demonstrando forte energia de interação com o fentanil e apresentando baixa flutuação (Figura 7B). Com isso, as hélices TMs que contêm resíduos com

menor energia de interação estão mais rígidas, apresentando menor flutuação estrutural. Esta rigidez é crucial para a estabilidade do receptor na presença dos ligantes, morfina e fentanil, assegurando a eficácia da ligação e a resposta funcional do receptor  $\mu$ OR. Por conseguinte, Ricarte, Dalton, Giraldo (2021) encontraram resultados semelhantes ao estudar a morfina e o fentanil complexados com o  $\mu$ OR, em específico, LYS235, ILE298, VAL302, TRP320, ILE324, ASP149, TYR150 e SER57 considerando o  $\mu$ OR::MOR e GLN126, ASN129, VAL145, CYS219, TYR328, SER57, ASP149, TYR150 no  $\mu$ OR::FEN por meio de simulações de DM de 3000 ns em triplicata usando o campo de força CHARMM36 no software ACEMD (Acelerando a dinâmica biomolecular na escala de tempo de microssegundos) (Harvey; Giupponi; Fabritiis, 2009; Ricarte; Dalton; Giraldo, 2021). Algumas diferenças surgem, como por exemplo, o aminoácido ASP56 que não foi identificado pela bioquímica quântica com forte energia de interação com a MOR e FEN, mas foi destacado por Ricarte, Dalton, Giraldo (2021) como o resíduo mais interativo. Além disso, Ricarte, Dalton, Giraldo (2021) não identificaram HIS299 em suas DMs em interação forte com a morfina e fentanil.

Pela bioquímica quântica, as interações predominantes entre a morfina e o receptor  $\mu$ -opioide incluem principalmente as interações de van der Waals, observadas em múltiplos resíduos como TYR150 ( $-6,43 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ ), ILE324 ( $3,96 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ ) e TRP295 ( $-3,96 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ ). Adicionalmente, o átomo de hidrogênio do anel aromático da morfina fez ligação de hidrogênio com HIS299 ( $-7,64 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ ) nas três dinâmicas moleculares. Vários trabalhos dentro dessa vertente, incluído os de Vo e colaboradores (2021), destacam que HIS297 admite ligação de hidrogênio mediado por água com a morfina. Além disso, interações hidrofóbicas (empilhamento  $\pi$ - $\pi$  e empilhamento  $\pi$ - $\pi$  em forma de T) também foram detectadas entre esse mesmo aminoácido e o anel aromático. ASP149 ( $-13,49 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ ) e TYR328 ( $-3,66 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ ) formou pontes salinas com o anel piperidina (Figura 9 a 11). Sader, Anant, Wu (2018), ao investigar a interação da morfina com o  $\mu$ OR, também relataram que uma ponte salina foi formada entre a amina terciária da morfina e ASP149 (TM3). Além disso, ILE298 ( $-3,81 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ ) interagiu com o anel aromático com ligações alquil e  $\pi$ -alquil. Por sua vez, o aminoácido MET153 ( $-6,13 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ ) fez interação  $\pi$ -enxofre com essa mesma região. Ligações eletrostáticas de hidrogênio com água foram presentes em todos os anéis da morfina ao longo das dinâmicas, contribuindo para a estabilidade da ligação. Pelo que foi exposto, ligações de hidrogênio foram predominantes com HIS299, colaborando para ativação do  $\mu$ OR (Lešnik *et al.*, 2023) na presença da morfina, enquanto ASP149 destacou-se formando uma ponte

salina em todas as dinâmicas (Zhuang *et al.*, 2022; Ricarte; Dalton; Giraldo, 2021; Sader; Anant; Wu, 2018). No estudo de Sader, Anant, Wu (2018), foram identificados vários resíduos-chave que interagem com a morfina, a saber, ASP149, TYR150, MET153 (TM3), LEU234, LYS235 e VAL238 (TM5), TRP295, ILE298, HIS299 e VAL302 (TM6), TRP320, ILE324, além de TYR328 (TM7), o que está em convergência com o que foi apresentado anteriormente, exceto, por algumas diferenças, como é o caso dos aminoácidos LEU234 e LYS235 que não interagiram fortemente com a morfina. Convém citar que os aminoácidos THR122, VAL238, TYR150, ASP149 e ILE146 formaram ligações de hidrogênio (Norouzi; Mirmohammadi; Tehrani, 2022) com água, fortalecendo a interação com a morfina.

Considerando o complexo  $\mu\text{OR}::\text{FEN}$ , as interações predominantes foram as do tipo van der Waals, observadas consistentemente em vários resíduos, incluindo TRP135 ( $-2,35 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ ), TRP320 ( $-2,25 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ ), VAL145 ( $-1,89 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ ), ILE146 ( $-3,75 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ ) e GLN126 ( $-3,02 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ ), resultados esses em concordância com estudos anteriores feitos por Zhuang e colaboradores (2022). Nesse sistema, houve uma ligação de hidrogênio entre LYS235 ( $-1,39 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ ) e o grupo amida. O resíduo ASP149 ( $-14,11 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ ) formou uma ponte salina com o anel piperidina e o anel anilina do fentanil, sendo uma interação universal da MOR e FEN com o  $\mu\text{OR}$  (Zhuang *et al.*, 2022; Ricarte; Dalton; Giraldo, 2021). Por sua vez, o aminoácido ILE298 ( $-4,58 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ ) interagiu especificamente com o grupo amida e o anel de anilina com uma ligação hidrofóbica alquil, o que também já foi identificado por Zhuang e colaboradores (2022). O aminoácido ILE324 ( $-5,81 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ ) fez ligação alquil com o anel anilina. Por conseguinte, MET153 ( $-1,99 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ ) fez uma interação hidrofóbica  $\pi$ -enxofre com o anel anilina (Zhuang *et al.*, 2022). Entre TRP295 ( $-3,38 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ ), TYR328 ( $-4,70$ ) e o anel anilina houve uma interação hidrofóbica do tipo empilhamento  $\pi$ - $\pi$ , o que também foi demonstrado por Zhuang e colaboradores (2022) e Lipiński, Jarończyk, Dobrowolski (2019) além de destacarem que GLN126, TRP135 e ILE146 afetam mais a potência do FEN do que a MOR (Zhuang *et al.*, 2022). Por sua vez, com HIS299 ( $-2,82 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ ) e o grupo amida houve a formação de interações hidrofóbicas alquil e  $\pi$ -alquil (Figura 12 a 14). De modo consistente, no complexo  $\mu\text{OR}::\text{MOR}$ , os aminoácidos THR122, VAL238, TYR150, ASP149 e ILE146 formaram ligações de hidrogênio com água, fortalecendo a interação com a morfina. Já no sistema  $\mu\text{OR}::\text{FEN}$ , os resíduos ASP149, GLN126, ILE146, TYR328, TRP320 e LYS235 também estabeleceram essas ligações, intensificando a interação com o fentanil e contribuindo para a estabilidade dos sistemas (Norouzi; Mirmohammadi; Tehrani,

2022).

Conforme relatado por Zhuang e colaboradores (2022), o receptor  $\mu$ OR interage com a MOR por meio de interações hidrofóbicas, envolvendo especificamente os resíduos das hélices transmembranares TM3, TM6 e TM7, achado que foi destacado em nossos resultados. De maneira detalhada, os resíduos VAL302, HIS299, ILE298 e TRP295 em TM6; TRP320, ILE324 e TYR328 em TM7; TYR150, MET153 e ASP149 em TM3; e VAL298 em TM5 foram destacados. Também identificaram aminoácidos chave no  $\mu$ OR que interagem fortemente com o FEN, como VAL302, HIS299, ILE298 e TRP295 em TM6; ILE324 e TYR328 em TM7; TYR150, MET153, ILE146, ASP149 e VAL145 em TM3; ASN129 e GLN126 em TM2; e CYS219 em ECL2. Além disso, foi observado que o anel n-anilina do FEN estabelece uma rede de interações hidrofóbicas com os resíduos TRP295, MET153, ILE298, GYR327 e TYR328, o que também foi encontrado em nossos resultados, especificamente com TRP295, MET153 e ILE298.

Por sua vez, os resíduos com menores energias de interação nos dois complexos foram ASP149, HIS299, ILE298, ILE324, TRP295, TYR150 e TYR328 no  $\mu$ OR e ASP149, ILE324, ILE298, TYR328, ILE146, TRP295 e GLN126 no  $\mu$ OR, contribuindo mais fortemente para a ativação do  $\mu$ OR na presença da morfina e fentanil (Figura 15 a 16). Entretanto, há diferenças significativas em alguns resíduos específicos do complexo  $\mu$ OR::FEN, a saber, ILE146, LYS235, CYS219 e GLN126 que não interagem fortemente no  $\mu$ OR::MOR, além de HIS299 e TYR150 em  $\mu$ OR::FEN, indicando diferentes padrões de interação para cada opioide no sítio ortostérico. Os pesquisadores Ricarte, Dalton e Giraldo (2021) destacaram que a morfina e o fentanil induzem diferentes alterações conformacionais no sítio de ligação, relatando que a morfina tem interações mais fortes com TYR150 e LYS235 e o fentanil, com ASP56, GLN126, CYS219 e TYR328 (Ricarte; Dalton; Giraldo, 2021).

O aminoácido ASP149, comum em ambos os sistemas forma uma ponte salina com os anéis piperidina da morfina e do fentanil (Ricarte; Dalton; Giraldo, 2021; Zhuang *et al.*, 2022; Lipiníski *et al.*, 2019; Vo *et al.*, 2021) e destaca-se devido à forte interação em ambos os complexos  $\mu$ OR::MOR e  $\mu$ OR::FEN, porém, no último complexo mencionado é mais forte (Ricarte; Dalton; Giraldo, 2021). O resíduo HIS299 de TM6 também se destaca devido à forte interação, fazendo ligação de hidrogênio com o anel aromático da morfina. Além disso, no segundo complexo, LYS235 de TM5 faz ligação de hidrogênio com o grupo amida do fentanil, apresentando forte interação e contribuindo para ativação do  $\mu$ OR. Ademais, essa ligação não

foi identificada com esse resíduo no sistema  $\mu\text{OR}::\text{MOR}$  (Figura 20). Comparativamente, nossos achados para  $\mu\text{OR}::\text{MOR}$  e  $\mu\text{OR}::\text{FEN}$  revelaram que o resíduo ASP149 da região TM3 estabelece pontes salinas com a porção amida do anel piperidina da morfina e fentanil, resultado também encontrado por Zhuang e colaboradores (2022), Ricarte, Dalton, Giraldo (2021), Claff e colaboradores (2019), como sendo uma característica universal dos opioides em receptores  $\mu$  ( $\mu\text{OR}$ ),  $\kappa$  ( $\kappa\text{OR}$ ) e  $\delta$  ( $\delta\text{OR}$ ) e considerada essencial para a ativação do  $\mu\text{OR}$ .

As regiões do  $\mu\text{OR}$  com maior ativação devido à menor energia de interação no complexo  $\mu\text{OR}::\text{MOR}$  foram TM3, TM6 e TM7, o que também já destacado por Sader, Anant, Wu (2018) e Ricarte, Dalton, Giraldo (2021). TM2 e TM5 também apresentaram interação significativa, mas com energia menor energia de interação em comparação às demais TMs (Tabela 3). No sistema  $\mu\text{OR}::\text{FEN}$ , as regiões TM3, TM6 e TM7 exibiram fortes energias de interação. Similar ao primeiro complexo, as hélices TM2 e TM5 apresentaram energias de interação consideráveis, porém inferior às outras hélices (Tabela 4). Em complemento, Lipiński e colaboradores (2019) corroboram esses achados em simulações de DM de 500 ns, destacando interações da morfina e do fentanil com as regiões TM3, TM5, TM6 e TM7 do receptor  $\mu$ -opioide, utilizando o campo de força CHARMM36 e o modelo de água TIP3P (Lipiniski *et al.*, 2019). Estudos mais recentes, conduzidos por Zhuang e colaboradores (2022) destacam que a molécula da morfina interagiu principalmente com os resíduos de TM3, TM6 e TM7. Considerando o fentanil, suas interações foram preferencialmente com os aminoácidos das hélices transmembranares TM2, TM3, TM6 e TM7, indicando semelhanças com os nossos resultados.

Ainda foi possível identificar fortes interações energéticas entre os resíduos do  $\mu\text{OR}$  e ambos os ligantes através dos cálculos da bioquímica quântica, alcançando valores de energia de interação de  $-69,43 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$  (DM1) e  $-74,21 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$  (DM3) com a morfina e fentanil, respectivamente, sendo que as médias de energia total da interação dos complexos  $\mu\text{OR}::\text{MOR}$  e  $\mu\text{OR}::\text{FEN}$  foram de  $-65,34 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$  e  $-63,80 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ , sugerindo que a MOR possui uma interação mais forte com o  $\mu\text{OR}$  com base nos cálculos quânticos. Portanto, esses resultados sugerem que a morfina pode ter uma interação mais forte com o receptor  $\mu$ -opioide. Não obstante, a literatura argumenta que o fentanil e não a morfina tem maior afinidade pelo  $\mu\text{OR}$  (Zhuang *et al.*, 2022; Ricarte; Dalton; Giraldo, 2021; Lipiniski *et al.*, 2019; Volpe *et al.*, 2011). Uma possível explicação para o grau de energia  $E_T = -47,63 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$  observado no sistema  $\mu\text{OR}::\text{FEN}$  durante a DM2 pode estar relacionada à baixa estabilidade do fentanil ao longo

dessa dinâmica, especialmente nos intervalos de tempo entre 0 – 10 *ns* e 70 – 80, o que pode influenciar esse resultado (Figura 6D). Nas demais dinâmicas, a estabilidade é mais consistente, o que se reflete nos resultados de energia de interação, mostrando maior afinidade entre o FEN e o  $\mu$ OR. Diante disso, para obter resultados mais precisos que expliquem melhor a interação entre esses opioides e o receptor  $\mu$ -opioide, recomenda-se a realização de novos estudos, desta vez modificando o tipo de membrana para uma mais adequada.

## 5 CONCLUSÕES

Com base no estudo realizado, verificou-se que o método de escore pelo Haddock é mais adequado para analisar a interação da morfina com o receptor  $\mu$ -opioide ( $\mu$ OR), enquanto o método de escore do AutoDock Vina demonstrou maior precisão para o fentanil interagindo com o  $\mu$ OR. Adicionalmente, constatou-se que o fentanil apresenta uma estabilidade superior à da morfina, evidenciada por uma menor variação de RMSD.

De modo específico, o aminoácido ASP149 da região TM3 formando ponte salina com o anel piperidina da morfina e fentanil destacou-se devido à forte interação em ambos os complexos  $\mu$ OR::MOR e  $\mu$ OR::FEN. No primeiro sistema, HIS299 de TM6 também destacou devido à forte interação e estabeleceu ligação de hidrogênio com o anel aromático da morfina. Ademais, no segundo sistema, LYS235 demonstrou ligação de hidrogênio com o grupo amida do fentanil e também apresentou forte interação.

As regiões do  $\mu$ OR mais ativadas pela morfina foram as transmembranas TM3, TM6 e TM7. De forma semelhante, na interação do fentanil com o receptor  $\mu$ -opioide, os resíduos nas regiões TM3, TM6 e TM7 demonstraram interações mais fortes. Em ambos os complexos, a TM7 foi particularmente relevante, indicando sua importância para a estabilidade do  $\mu$ OR quando ligado à morfina e ao fentanil.

Vale destacar que, para o fentanil, além das regiões TM3, TM6 e TM7, as regiões TM2 e TM5 também apresentaram interações significativas, diferentemente do que foi observado no complexo  $\mu$ OR::MOR. Em ambos os casos, a TM3 foi a região mais ativada pela presença dos opioides, o que reforça sua importância na estabilidade do receptor  $\mu$ OR quando ligado tanto à morfina quanto ao fentanil.

Os resultados do estudo permitem concluir que tanto a MOR quanto o FEN mantêm estabilidade durante as simulações moleculares, com este último exibindo uma estabilidade ligeiramente superior. O receptor  $\mu$ -opioide mostrou interações semelhantes com ambos os ligantes, embora diferentes resíduos específicos estejam envolvidos em cada caso, tais como HIS299, TYR150 e MET53 interagindo com a morfina e LYS235, ASN129 e ILE146 interagindo com  $\mu$ OR. Além disso, a morfina demonstrou uma energia de interação mais forte com o  $\mu$ OR do que o fentanil.

Os achados deste trabalho podem contribuir significativamente para a concepção de novos fármacos mais eficientes e com menos efeitos adversos, possuindo maior especificidade pelos receptores  $\mu$ -opioides.



## REFERÊNCIAS

- ABDELAL, R.; BANERJEE, A. R.; CARLBERG-RACICH, S.; DARWAZA, N.; ITO, D.; SHOAFF, J.; EPSTEIN, J. Real-world study of multiple naloxone administration for opioid overdose reversal among bystanders. **Harm Reduction Journal**, [s. l.], v. 19, n. 1, p. 49, 2022. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1186/s12954-022-00627-3>. Acesso em: 12 dez. 2023.
- AL-HASANI, R.; BRUCHAS, M. R. Molecular mechanisms of opioid receptor-dependent signaling and behavior. **Anesthesiology**, [s. l.], v. 115, n. 6, p. 1363–1381, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1097/ALN.0b013e318238bba6>. Acesso em: 12 dez. 2023.
- AMARAL, J. L.; LUCREDI, N. C.; FRANÇA, V. L. B.; SANTOS, S. J. M.; MAIA, F. F.; MORAIS, P. A.; SOUZA, P. F. N.; COMAR, J. F.; FREIRE, V. N. Tofacitinib and peficitinib inhibitors of janus kinase for autoimmune disease treatment: a quantum biochemistry approach. **Phys. Chem. Chem. Phys.**, The Royal Society of Chemistry, [s. l.], v. 26, p. 13420–13431, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/D3CP06332A>. Acesso em: 16 jun. 2024.
- AMARAL, J. L.; SANTOS, S. J. M.; SOUZA, P. F. N.; MORAIS, P. A. de; MAIA, F. F. J.; CARVALHO, H. F.; FREIRE, V. N. Quantum biochemistry in cancer immunotherapy: New insights about ctnla-4/ipilimumab and design of ipilimumab-derived peptides with high potential in cancer treatment. **Molecular Immunology**, [s. l.], v. 127, p. 203–211, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2020.09.013>. Acesso em: 28 fev. 2024.
- ANGLADON, M.-A.; FOSSÉPRÉ, M.; LEHERTE, L.; VERCAUTEREN, D. P. Interaction of popc, dppc, and pope with the  $\mu$  opioid receptor: A coarse-grained molecular dynamics study. **PLOS ONE**, Public Library of Science, [s. l.], v. 14, n. 3, p. 1–19, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0213646>. Acesso em: 28 jun. 2024.
- ARITA, H.; TANAKA, R.; KIKUKAWA, S.; TOMIZAWA, T.; SAKATA, H.; FUNADA, M.; TOMIYAMA, K.; HASHIMOTO, M.; TASAKA, T.; TABATA, H.; NAKAMURA, K.; MAKINO, K.; OSHITARI, T.; NATSUGARI, H.; TAKAHASHI, H. Fentanyl-type antagonist of the  $\mu$ -opioid receptor: Important role of axial chirality in the active conformation. **Journal of Medicinal Chemistry**, American Chemical Society, [s. l.], v. 67, n. 12, p. 10447–10463, June 2024. ISSN 0022-2623. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.4c00935>. Acesso em: 27 jun. 2024.
- ASCHENBRENNER, D. S. New naloxone concentration treats opioid overdose. **AJN, American Journal of Nursing**, [s. l.], v. 122, n. 2, p. 25, Feb 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1097/01.NAJ.0000820552.55044.dd>. Acesso em: 15 jun. 2024.
- ATKINS, P. W.; PAULA, J. D.; KEELER, J. **Atkins' physical chemistry**. [s. l.]: Oxford university press, 2023. Acesso em: 28 jun. 2024.
- BELL, E. W.; ZHANG, Y. Dockrmsd: an open-source tool for atom mapping and rmsd calculation of symmetric molecules through graph isomorphism. **J Cheminform**, [s. l.], v. 11, p. 40, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13321-019-0362-7>. Acesso em: 15 fev. 2024.
- BEN-AMOTZ, D. Hydrophobic ambivalence: Teetering on the edge of randomness. **The Journal of Physical Chemistry Letters**, American Chemical Society, [s. l.], v. 6, n. 9, p. 1696–1701, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.jpcllett.5b00404>. Acesso em: 28 jun. 2024.

BERENDSEN, H. J. C.; POSTMA, J. P. M.; GUNSTEREN, W. F. van; DINOLA, A.; HAAK, J. R. Molecular dynamics with coupling to an external bath. **The Journal of Chemical Physics**, [s. l.], v. 81, n. 8, p. 3684–3690, 1984. Disponível em: <https://doi.org/10.1063/1.448118>. Acesso em: 20 ago. 2024.

BERMAN, H. M.; WESTBROOK, J.; FENG, Z.; GILLILAND, G.; BHAT, T. N.; WEISSIG, H.; SHINDYALOV, I. N.; BOURNE, P. E. The protein data bank. **Nucleic Acids Research**, [s. l.], v. 28, n. 1, p. 235–242, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/nar/28.1.235>. Acesso em: 20 jun. 2024.

BHOLA, R.; GHUMARA, R.; PATEL, C.; PARSANA, V.; BHATT, K.; KUNDARIYA, D.; VAGHANI, H. Solubility and thermodynamics profile of benzethonium chloride in pure and binary solvents at different temperatures. **ACS Omega**, American Chemical Society, [s. l.], v. 8, n. 16, p. 14430–14439, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c07877>. Acesso em: 22 fev. 2024.

BUGNON, M.; RÖHRIG, U. F.; GOULLIEUX, M.; PEREZ, M. A. S.; DAINA, A.; MICHIELIN, O.; ZOETE, V. Swissdock 2024: major enhancements for small-molecule docking with attracting cavities and autodock vina. **Nucleic Acids Research**, Oxford University Press, [s. l.], v. 52, n. W1, p. W324–W332, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/nar/gkae300>. Acesso em: 20 set. 2024.

CARLSON, B. M. **The human body: linking structure and function**. [s. l.]: Academic Press, 2018. ISBN 9780128043325. Disponível em: <http://lib.ugent.be/catalog/ebk01:4100000007101004>. Acesso em: 16 jun. 2024.

CHANG, R. **Physical chemistry for the biosciences**. [s. l.]: University Science Books, 2005.

CHE, T.; DWIVEDI-AGNIHOTRI, H.; SHUKLA, A. K.; ROTH, B. L. Biased ligands at opioid receptors: Current status and future directions. **Sci Signal**, [s. l.], v. 14, n. 677, p. 3320–3325, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/scisignal.aav0320>. Acesso em: 10 fev. 2024.

CHEN, D.; OEZGUEN, N.; URVIL, P.; FERGUSON, C.; DANN, S. M.; SAVIDGE, T. C. Regulation of protein-ligand binding affinity by hydrogen bond pairing. **Science advances**, [s. l.], v. 2, n. 3, p. e1501240, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/sciadv.1501240>. Acesso em: Acesso em: 12 fev. 2024.

CHEN, X.; ZHANG, Y.; ZHANG, J. Z. H. An efficient approach for ab initio energy calculation of biopolymers. **The Journal of Chemical Physics**, [s. l.], v. 122, n. 18, p. 184105, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1063/1.1897382>. Acesso em: 16 jun. 2024.

CHEREPANOV, V. N.; KALUGINA, Y. N.; BULDAKOV, M. A. **Interaction-Induced Electric Properties of van der Waals Complexes**. [s. l.]: Springer, 2017. Acesso em: 28 jun. 2024.

COMER, S. D.; CAHILL, C. M. Fentanyl: Receptor pharmacology, abuse potential, and implications for treatment. **Neurosci Biobehav Rev**, [s. l.], v. 106, p. 49–57, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2018.12.005>. Acesso em: 10 jan. 2024.

COMYN, J. Theories of adhesion. In: **Handbook of adhesives and sealants**. [s. l.]: Elsevier, 2006. v. 2, p. 1–50.

CONIBEAR, A. E.; KELLY, E. A biased view of  $\mu$ -opioid receptors? **Molecular Pharmacology**, American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics, [s. l.], v. 96, n. 5, p. 542–549, 2019. ISSN 0026-895X. Disponível em: <https://doi.org/10.1124/mol.119.115956>. Acesso em: 16 jun. 2024.

CONVERTINO, M.; SAMOSHKIN, A.; VIET, C. T.; GAUTHIER, J.; FRAINE, S. P. L.; SHARIF-NAEINI, R.; SCHMIDT, B. L.; MAIXNER, W.; DIATCHENKO, L.; DOKHOLYAN, N. V. Differential regulation of 6- and 7-transmembrane helix variants of  $\mu$ -opioid receptor in response to morphine stimulation. **PLoS One**, [s. l.], v. 10, n. 11, p. e0142826, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0142826>. Acesso em: 28 jun. 2024.

DAIBANI, A. E.; CHE, T. Spotlight on nociceptin/orphanin fq receptor in the treatment of pain. **Molecules**, [s. l.], v. 27, n. 3, p. 595, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules27030595>. Acesso em: 18 mar. 2024.

DALAL, S.; BRUERA, E. Pain management for patients with advanced cancer in the opioid epidemic era. **American Society Of Clinical Oncology Educational Book**, [s. l.], p. 39–39, 2019. Disponível em: [https://doi.org/10.1200/EDBK\\_100020](https://doi.org/10.1200/EDBK_100020). Acesso em: 20 jul. 2024.

DAOUD, N.; MATEOS, D. L.; RILEY, M. A.; SIEGEL, J. B. Computational drug design of novel agonists of the  $\mu$  – opioid receptor to inhibit pain signaling. **bioRxiv**, Cold Spring Harbor Laboratory, [s. l.], 2023. Disponível em: <https://www.biorxiv.org/content/early/2023/08/26/2023.08.25.554876>. Acesso em: 16 jun. 2024.

DELLEY, B. From molecules to solids with the dmol3 approach. **The Journal of Chemical Physics**, [s. l.], v. 113, n. 18, p. 7756–7764, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1063/1.1316015>. Acesso em: 20 jul. 2024.

DHALIWAL, A.; GUPTA, M. **Physiology, Opioid Receptor**. [s. l.]: StatPearls Publishing, Treasure Island (FL), 2023. Disponível em: <http://europepmc.org/books/NBK546642>. Acesso em: 20 jul. 2024.

DURKEE, J. B. Cleaning with solvents. In: **Developments in Surface Contamination and Cleaning**. [s. l.]: Elsevier, 2008. p. 759–871.

EBERHARDT, J.; SANTOS-MARTINS, D.; TILLACK, A. F.; FORLI, S. Autodock vina 1.2.0: New docking methods, expanded force field, and python bindings. **Journal of Chemical Information and Modeling**, [s. l.], v. 61, n. 8, p. 3891–3898, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.1c00203>. Acesso em: 28 ago. 2024.

ELLIS, C. R.; KRUHLAK, N. L.; KIM, M. T.; HAWKINS, E. G.; STAVITSKAYA, L. Predicting opioid receptor binding affinity of pharmacologically unclassified designer substances using molecular docking. **PLOS ONE**, [s. l.], v. 13, n. 5, p. e0197734, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197734>. Acesso em: 25 jun. 2024.

FRANÇA, V. L. B.; AMARAL, J. L.; MARTINS, Y. A.; CAETANO, E. W. S.; BRUNALDI, K.; FREIRE, V. N. Characterization of the binding interaction between atrazine and human serum albumin: Fluorescence spectroscopy, molecular dynamics and quantum biochemistry. **Chemico-Biological Interactions**, [s. l.], v. 366, p. 110130, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2022.110130>. Acesso em: 19 abr. 2024.

GIANNOS, T.; LEŠNIK, S.; BREN, U.; HODOŠČEK, M.; DOMRATCHEVA, T.; BONDAR, A.-N. Charmm force-field parameters for morphine, heroin, and oliceridine, and conformational dynamics of opioid drugs. **Journal of Chemical Information and Modeling**, American Chemical Society, [s. l.], v. 61, n. 8, p. 3964–3977, 2021. ISSN 1549-9596. Acesso em: 27 jun. 2024.

GOERIGK, L. **A Comprehensive Overview of the DFT-D3 London-Dispersion Correction**. [s. l.]: Elsevier, 2017. 195-219 p. ISBN 978-0-12-809835-6. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128098356000074>. Acesso em: 1 jul. 2024.

GRIFFITHS, D. J. **Introduction to electrodynamics**. Reino Unido: Cambridge University Press, 2023.

GUTERRES, H.; IM, W. Improving protein-ligand docking results with high-throughput molecular dynamics simulations. **Journal of Chemical Information and Modeling**, American Chemical Society, [s. l.], v. 60, n. 4, p. 2189–2198, 2020. ISSN 1549-9596. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.0c00057>. Acesso em: 25 jun. 2024.

GUTIÉRREZ, I. S.; LIN, F.-Y.; VANOMMESLAEGHE, K.; LEMKUL, J. A.; ARMACOST, K. A.; BROOKS, C. L.; MACKERELL, A. D. Parametrization of halogen bonds in the charmm general force field: Improved treatment of ligand–protein interactions. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 24, n. 20, p. 4812–4825, 2016. ISSN 0968-0896. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2016.06.034>. Acesso em: 28 jun. 2024.

HARVEY, M. J.; GIUPPONI, G.; FABRITIIS, G. D. Acemd: Accelerating biomolecular dynamics in the microsecond time scale. **Journal of Chemical Theory and Computation**, [s. l.], v. 5, n. 6, p. 1632–1639, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ct9000685>. Acesso em: 27 jun. 2024.

HERSCHLAG, D.; PINNEY, M. M. Hydrogen bonds: Simple after all? **Biochemistry**, [s. l.], v. 57, n. 24, p. 3338–3352, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.biochem.8b00217>. Acesso em: 12 fev. 2024.

HILL, R.; SANTHAKUMAR, R.; DEWEY, W.; KELLY, E.; HENDERSON, G. Fentanyl depression of respiration: Comparison with heroin and morphine. **British Journal of Pharmacology**, [s. l.], v. 177, n. 2, p. 254–266, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/bph.14860>. Acesso em: 25 abr. 2024.

HONORATO, R.; KOUKOS, P.; JIMENEZ-GARCIA, B.; TSAREGORODTSEV, A.; VERLATO, M.; GIACHETTI, A.; ROSATO, A.; BONVIN, A. Structural biology in the clouds: The wenmr-eosc ecosystem. **Frontiers in Molecular Biosciences**, [s. l.], v. 8, p. 729513, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmolb.2021.729513>. Acesso em: 28 fev. 2024.

HONORATO, R.; TRELLET, M.; JIMÉNEZ-GARCÍA, B.; SCHAARSCHMIDT, J.; GIULINI, M.; REYS, V.; KOUKOS, P.; RODRIGUES, J.; KARACA, E.; ZUNDERT, G. van; ROEL-TOURIS, J.; NOORT, C. van; JANDOVÁ, Z.; MELQUIOND, A.; BONVIN, A. The haddock2.4 web server: A leap forward in integrative modelling of biomolecular complexes. **Nature Protocols**, [s. l.], 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41596-024-01011-0>. Acesso em: 28 mar. 2024.

- HOSSEININEJAD, S. M.; AMIRI, M. M.; BOZORGI, F.; MONTAZAR, S. H.; FIROUZIAN, A.; MOOSAZADEH, M.; KHATIR, I. G.; SHAHBAKHTI, N.; DARVISHI-KHEZRI, H. Does co-treatment with ultra-low-dose naloxone and morphine provide better analgesia in renal colic patients? **The American Journal of Emergency Medicine**, [s. l.], v. 37, n. 6, p. 1025–1032, 2019. ISSN 0735-6757. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0735675718306739>. Acesso em: 16 jun. 2024.
- HOUSTON, D. R.; WALKINSHAW, M. D. Consensus docking: Improving the reliability of docking in a virtual screening context. **Journal of Chemical Information and Modeling**, [s. l.], v. 53, n. 2, p. 384–390, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ci300399w>. Acesso em: 25 abr. 2024.
- HUANG, J.; MACKERELL, A. D. J. Charmm36 all-atom additive protein force field: validation based on comparison to nmr data. **J. Comput. Chem.**, [s. l.], v. 34, p. 2135–2145, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jcc.23354>. Acesso em: 25 abr. 2024.
- HUANG, J.; RAUSCHER, S.; NAWROCKI, G.; RAN, T.; FEIG, M.; GROOT, B. L. de; GRUBMÜLLER, H.; MACKERELL, A. D. Charmm36m: an improved force field for folded and intrinsically disordered proteins. **Nature Methods**, [s. l.], v. 14, n. 1, p. 71–73, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nmeth.4067>. Acesso em: 28 jun. 2024.
- HUANG, W.; MANGLIK, A.; VENKATAKRISHNAN, A. J.; LAEREMANS, T.; FEINBERG, E. N.; SANBORN, A. L.; KATO, H. E.; LIVINGSTON, K. E.; THORSEN, T. S.; KLING, R. C.; GRANIER, S.; GMEINER, P.; HUSBANDS, S. M.; TRAYNOR, J. R.; WEIS, W. I.; STEYAERT, J.; DROR, R. O.; KOBILKA, B. K. Structural insights into  $\mu$ -opioid receptor activation. **Nature**, [s. l.], v. 524, n. 7565, p. 315–321, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nature14886>. Acesso em: 25 abr. 2024.
- HUANG, Y.; ZHANG, H.; JIANG, S.; YUE, D.; LIN, X.; ZHANG, J.; GAO, Y. Q. Dsdp: A blind docking strategy accelerated by gpus. **Journal of Chemical Information and Modeling**, American Chemical Society, [s. l.], v. 63, n. 14, p. 4355–4363, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.3c00519>. Acesso em: 16 jun. 2024.
- JABŁOŃSKI, M. Hydrogen bonds. **Molecules**, MDPI AG, [s. l.], v. 28, n. 4, p. 1616, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules28041616>. Acesso em: Acesso em: 13 fev. 2024.
- JACKSON, J. D. Electrodynamics. **The Optics Encyclopedia: Basic Foundations and Practical Applications**, Wiley Online Library, [s. l.], 2007.
- JONES, R. O. Density functional theory: its origins, rise to prominence, and future. **Reviews of Modern Physics**, [s. l.], v. 87, p. 897–923, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1103/RevModPhys.87.897>. Acesso em: 25 abr. 2024.
- JUNQUEIRA, H.; SCHRODER, A. P.; THALMANN, F.; KLYMCHENKO, A.; MÉLY, Y.; BAPTISTA, M. S.; MARQUES, C. M. Molecular organization in hydroperoxidized popc bilayers. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes**, [s. l.], v. 1863, n. 10, p. 183659, 2021. ISSN 0005-2736. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2021.183659>. Acesso em: 25 jun. 2024.

KANDASAMY, R.; HILLHOUSE, T. M.; LIVINGSTON, K. E.; KOCHAN, K. E.; MEURICE, C.; EANS, S. O.; LI, M. H.; WHITE, A. D.; ROQUES, B. P.; MCLAUGHLIN, J. P.; INGRAM, S. L.; BURFORD, N. T.; ALT, A.; TRAYNOR, J. R. Positive allosteric modulation of the mu-opioid receptor produces analgesia with reduced side effects. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [s. l.], v. 118, n. 16, p. e2000017118, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.2000017118>. Acesso em: 25 abr. 2024.

KAPOOR, A.; MARTINEZ-ROSELL, G.; PROVASI, D.; FABRITIIS, G. de; FILIZOLA, M. Dynamic and kinetic elements of  $\mu$ -opioid receptor functional selectivity. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 11255, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-11483-8>. Acesso em: 25 abr. 2024.

KLAUDA, J. B.; VENABLE, R. M.; FREITES, J. A.; O'CONNOR, J. W.; TOBIAS, D. J.; MONDRAGON-RAMIREZ, C.; VOROBYOV, I.; MACKERELL, A. D.; PASTOR, R. W. Update of the charmm all-atom additive force field for lipids: validation on six lipid types. **Journal of Physical Chemistry B**, [s. l.], v. 114, n. 23, p. 7830–7843, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/jp101759q>. Acesso em: 28 jun. 2024.

KLMAT, A.; SCHÜRMANN, G. Cosmo: a new approach to dielectric screening in solvents with explicit expressions for the screening energy and its gradient. **Journal of The Chemical Society-perkin Transactions 1**, [s. l.], p. 799–805, 1993. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/P29930000799>. Acesso em: 7 jun. 2024.

KNUDSEN, H. K.; WALKER, D. M.; MACK, N.; KINNARD, E. N.; HUERTA, T. R.; GLASGOW, L.; GILBERT, L.; GARNER, B. R.; DASGUPTA, A.; CHANDLER, R.; WALSH, S. L.; TIN, Y.; TAN, S.; SPRUNGER, J.; SPRAGUE-MARTINEZ, L.; SALSBERY, P.; SAUCIER, M.; RUDORF, M.; RODRIGUEZ, S.; OSER, C. B.; OGA, E.; NAKAYIMA, J.; LINAS, B. S.; LEFEBVRE, R. C.; KOSAKOWSKI, S.; KATZ, R. E.; HUNT, T.; HOLMAN, A.; HOLLOWAY, J.; GODDARD-ECKRICH, D.; FAREED, N.; CHRISTOPHER, M.; ALDRICH, A.; ADAMS, J. W.; DRAINONI, M.-L. Reducing perceived barriers to scaling up overdose education and naloxone distribution and medications for opioid use disorder in the united states in the healing (helping end addiction long-term) communities study. **Preventive Medicine**, [s. l.], v. 185, p. 108034, 2024. ISSN 0091-7435. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ypmed.2024.108034>. Acesso em: 25 jun. 2024.

KOEHL, A.; HU, H.; MAEDA, S.; ZHANG, Y.; QU, Q.; PAGGI, J. M.; LATORRACA, N. R.; HILGER, D.; DAWSON, R.; MATILE, H.; SCHERTLER, G. F. X.; GRANIER, S.; WEIS, W. I.; DROR, R. O.; MANGLIK, A.; SKINIOTIS, G.; KOBILKA, B. K. Structure of the  $\mu$ -opioid receptor-gi protein complex. **Nature**, [s. l.], v. 558, n. 7711, p. 547–552, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0219-7>. Acesso em: 7 jun. 2024.

KRAMERS, H. A. **Quantum mechanics**. [s. l.]: Courier Dover Publications, 2018.

KRYACHKO, E. S.; LUDEÑA, E. V. Density functional theory: Foundations reviewed. **Physics Reports**, [s. l.], v. 544, n. 2, p. 123–239, 2014. ISSN 0370-1573. Density functional theory: Foundations reviewed. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0370157314002075>. Acesso em: 15 jul. 2024.

LAMBER, D. G. Opioids and opioid receptors; understanding pharmacological mechanisms as a key to therapeutic advances and mitigation of the misuse crisis. **BJA Open**, [s. l.], v. 6, p. 100141, 2023. ISSN 2772-6096. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bjao.2023.100141>. Acesso em: 10 ago. 2024.

- LAMBERT, D. G. Opioids and opioid receptors; understanding pharmacological mechanisms as a key to therapeutic advances and mitigation of the misuse crisis. **BJA Open**, [s. l.], v. 6, p. 100141, 2023. ISSN 2772-6096. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2772609623000205>. Acesso em: 25 jun. 2024.
- LEE, J.; CHENG, X.; SWAILS, J. M.; YEOM, M. S.; EASTMAN, P. K.; LEMKUL, J. A.; WEI, S.; BUCKNER, J.; JEONG, J. C.; QI, Y.; JO, S.; PANDE, V. S.; CASE, D. A.; BROOKS, C. L. I.; MACKERELL, A. D. J.; KLAUDA, J. B.; IM, W. Charmm-gui input generator for namd, gromacs, amber, openmm, and charmm/openmm simulations using the charmm36 additive force field. **Journal of Chemical Theory and Computation**, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 405–413, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.5b00935>. Acesso em: 16 jun. 2024.
- LEŠNIK, S.; BERTALAN, É.; BREN, U.; BONDAR, A.-N. Opioid receptors and protonation-coupled binding of opioid drugs. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 22, n. 24, p. 13353, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms222413353>. Acesso em: 27 jun. 2024.
- LEŠNIK, S.; BREN, U.; DOMRATCHEVA, T.; BONDAR, A.-N. Fentanyl and the fluorinated fentanyl derivative nfepp elicit distinct hydrogen-bond dynamics of the opioid receptor. **Journal of Chemical Information and Modeling**, [s. l.], v. 63, n. 15, p. 4732–4748, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jcic.2023.100141>. Acesso em: 10 ago. 2024.
- LI, J.; FU, A.; ZHANG, L. An overview of scoring functions used for protein–ligand interactions in molecular docking. **Interdisciplinary Sciences: Computational Life Sciences**, [s. l.], v. 11, n. 2, p. 320–328, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12539-019-00327-w>. Acesso em: 10 ago. 2024.
- LI, Z.; LIU, J.; DONG, F.; CHANG, N.; HUANG, R.; XIA, M.; PATTERSON, T. A.; HONG, H. Three-dimensional structural insights have revealed the distinct binding interactions of agonists, partial agonists, and antagonists with the  $\mu$  opioid receptor. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 24, n. 8, p. 7042, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms24087042>. Acesso em: 10 ago. 2024.
- LIPINIŃSKI, P. F. J.; JAROŃCZYK, M.; DOBROWOLSKI, J. C.; SADLEJ, J. Molecular dynamics of fentanyl bound to  $\mu$ -opioid receptor. **J. Mol. Model.**, [s. l.], v. 25, p. 144, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00894-019-3999-2>. Acesso em: 10 ago. 2024.
- LU, H.; CRAWFORD, F. W.; GONSALVES, G. S.; GRAU, L. E. Geographic and temporal trends in fentanyl-detected deaths in connecticut, 2009–2019. **Annals of Epidemiology**, [s. l.], v. 79, p. 32–38, 2023. ISSN 1047-2797. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2023.01.009>. Acesso em: 5 ago. 2024.
- MAHINTHICHAICHAN, P.; LIU, R.; VO, Q. N.; ELLIS, C. R.; STAVITSKAYA, L.; SHEN, J. Structure-kinetics relationships of opioids from metadynamics and machine learning. **bioRxiv [Preprint]**, [s. l.], March 2023. Preprint. Disponível em: <https://doi.org/10.1101/2023.03.06.531338>. Acesso em: 25 jun. 2024.
- MANGLIK, A.; KRUSE, A.; KOBILKA, T. *et al.* Crystal structure of the  $\mu$ -opioid receptor bound to a morphinan antagonist. **Nature**, [s. l.], v. 485, p. 321–326, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nature10954>. Acesso em: 5 ago. 2024.

MARTÍNEZ, L. Automatic identification of mobile and rigid substructures in molecular dynamics simulations and fractional structural fluctuation analysis. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 10, n. 3, p. e0119264, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119264>. Acesso em: 5 ago. 2024.

MATTSON, C. L.; TANZ, L. J.; QUINN, K.; KARIISA, M.; PATEL, P.; DAVIS, N. L. Trends and geographic patterns in drug and synthetic opioid overdose deaths - united states, 2013-2019. **MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report**, [s. l.], v. 70, n. 6, p. 202–207, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm7006a4>. Acesso em: 1 ago. 2024.

MOINI, J.; GUTIERREZ, A.; AVGEROPOULOS, N. Neurotransmission. In: MOINI, J.; GUTIERREZ, A.; AVGEROPOULOS, N. (Ed.). **Clinical Neuroepidemiology of Acute and Chronic Disorders**. [s. l.]: Academic Press, 2023. p. 43–52. ISBN 9780323959018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-95901-8.00015-8>. Acesso em: 28 jun. 2024.

MORAIS, P.; MAIA, F. J.; SOLIS-CALERO, C.; CAETANO, E.; FREIRE, V.; CARVALHO, H. The urokinase plasminogen activator binding to its receptor: a quantum biochemistry description within an in/homogeneous dielectric function framework with application to upa-upar peptide inhibitors. **Physical Chemistry Chemical Physics**, [s. l.], v. 22, n. 6, p. 3570–3583, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/c9cp06530j>. Acesso em: 16 jun. 2024.

MORRIS, G.; HUEY, R.; LINDSTROM, W.; SANNER, M.; BELEW, R.; GOODSSELL, D.; OLSON, A. Autodock4 and autodocktools4: Automated docking with selective receptor flexibility. **Journal of Computational Chemistry**, [s. l.], v. 30, n. 16, p. 2785–2791, December 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jcc.21256>. Acesso em: 16 jun. 2024.

MURPHY, P. B.; BECHMANN, S.; BARRETT, M. J. Morphine. **StatPearls [Internet]**, [s. l.], 2024. [Updated 2023 May 22]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30252371/>. Acesso em: 1 ago. 2024.

NOROUZI, P.; MIRMHAMMADI, M.; TEHRANI, M. H. H. Anticancer peptides mechanisms, simple and complex. **Chemico-Biological Interactions**, [s. l.], v. 368, p. 110194, 2022. ISSN 0009-2797. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2022.110194>. Acesso em: 28 jun. 2024.

PARRINELLO, M.; RAHMAN, A. Crystal structure and pair potentials: A molecular-dynamics study. **Phys. Rev. Lett.**, [s. l.], v. 45, n. 14, p. 1196–1199, 1980. Disponível em: <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.45.1196>. Acesso em: 3 ago. 2024.

PATOCKA, J.; WU, W.; OLEKSAK, P.; JELINKOVA, R.; NEPOVIMOVA, E.; SPICANOVA, L.; SPRINGEROVA, P.; ALOMAR, S.; LONG, M.; KUCA, K. Fentanyl and its derivatives: Pain-killers or man-killers? **Heliyon**, [s. l.], v. 10, n. 8, p. e28795, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e28795>. Acesso em: 8 jun. 2024.

PERDEW, J. P.; BURKE, K.; ERNZERHOF, M. Generalized gradient approximation made simple. **Phys Rev Lett.**, [s. l.], v. 77, n. 18, p. 3865–3868, 1996. PMID: 10062328. Disponível em: <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.77.3865>. Acesso em: 8 jun. 2024.

PIEKIELNA-CIESIELSKA, J.; ARTALI, R.; AZZAM, A. A. H.; LAMBERT, D. G.; KLUCZYK, A.; GENTILUCCI, L.; JANECKA, A. Pharmacological characterization of  $\mu$ -opioid receptor agonists with biased g protein or  $\beta$ -arrestin signaling, and computational study of conformational changes during receptor activation. **Molecules**, [s. l.], v. 26, n. 1, p. 13, December 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules26010013>. Acesso em: 16 jun. 2024.



PILEIO, G. **Quantum Mechanics: Inception or Conception? A Classical Preamble to Quantum Mechanics**. 1st. ed. [s. l.]: CRC Press, 2024.

PODLEWSKA, S.; BUGNO, R.; KUDLA, L.; BOJARSKI, A. J.; PRZEWLOCKI, R. Molecular modeling of  $\mu$  opioid receptor ligands with various functional properties: Pzm21, sr-17018, morphine, and fentanyl—simulated interaction patterns confronted with experimental data. **Molecules**, [s. l.], v. 25, n. 20, p. 4636, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules25204636>. Acesso em: 25 jun. 2024.

QUINN, E.; MURPHY, E.; PONT, D. D.; COMBER, P.; BLOOD, M.; SHAH, A.; KUC, A.; HUNTER, K.; CARROLL, G. Outcomes of out-of-hospital cardiac arrest patients who received naloxone in an emergency medical services system with a high prevalence of opioid overdose. **The Journal of Emergency Medicine**, [s. l.], 2024. ISSN 0736-4679. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jemermed.2024.03.038>. Acesso em: 25 jun. 2024.

RAE, A. I. M.; NAPOLITANO, J. **Quantum Mechanics**. 6th. ed. [s. l.]: CRC Press, 2015.

RAJASEKAR, S.; VELUSAMY, R. **Quantum Mechanics I: The Fundamentals**. 2nd. ed. [s. l.]: CRC Press, 2022.

REEVES, K. C.; SHAH, N.; MUÑOZ, B.; ATWOOD, B. K. Opioid receptor-mediated regulation of neurotransmission in the brain. **Frontiers in Molecular Neuroscience**, [s. l.], v. 15, p. 919773, June 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fnmol.2022.919773>. Acesso em: 16 jun. 2024.

RICARTE, A.; DALTON, J. A. R.; GIRALDO, J. Structural assessment of agonist efficacy in the  $\mu$ -opioid receptor: Morphine and fentanyl elicit different activation patterns. **Journal of Chemical Information and Modeling**, [s. l.], v. 61, n. 3, p. 1251–1274, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.0c00890>. Acesso em: 8 jun. 2024.

RINGUETTE, A. E.; SPOCK, M.; LINDSLEY, C. W.; BENDER, A. M. Dark classics in chemical neuroscience: Carfentanil. **ACS Chemical Neuroscience**, [s. l.], v. 11, n. 23, p. 3955–3967, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acschemneuro.0c00441>. Acesso em: 1 jun. 2024.

ROCK, P. *et al.* Examination of naloxone dosing patterns for opioid overdose by emergency medical services in kentucky during increased fentanyl use from 2018 to 2021. **Drug and Alcohol Dependence**, [s. l.], v. 255, p. 111062, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2023.111062>. Acesso em: 1 jun. 2024.

RONDISVALLE, S.; PANARELLO, F.; SPADARO, A.; FRANCHINI, S.; PAPPALARDO, M.; GUCCIONE, S.; BASILE, L. Pharmacological properties and biochemical mechanisms of  $\mu$ -opioid receptor ligands might be due to different binding poses: Md studies. **Future Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 12, n. 22, p. 2001–2018, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.4155/fmc-2020-0249>. Acesso em: 1 jun. 2024.

ROSELL, G. M.; GIORGINO, T.; FABRITIIS, G. D. Playmolecule proteinprepare: A web application for protein preparation for molecular dynamics simulations. **Journal of Chemical Information and Modeling**, [s. l.], v. 57, n. 7, p. 1511–1516, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.7b00190>. Acesso em: 5 ago. 2024.

SADER, S.; ANANT, K.; WU, C. To probe interaction of morphine and ibntxa with 7tm and 6tm variants of the human  $\mu$ -opioid receptor using all-atom molecular dynamics simulations with an explicit membrane. **Physical Chemistry Chemical Physics**, [s. l.], v. 20, n. 3, p. 1724–1741, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/c7cp06745c>. Acesso em: 28 jun. 2024.

SAKURAI, J. J.; NAPOLITANO, J. **Modern quantum mechanics**. Reino Unido: Cambridge University Press, 2020. 125 p.

SARGSYAN, K.; GRAUFFEL, C.; LIM, C. How molecular size impacts rmsd applications in molecular dynamics simulations. **Journal of Chemical Theory and Computation**, [s. l.], v. 13, n. 4, p. 1518–1524, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.7b00028>. Acesso em: 1 jun. 2024.

SCHWINGER, J. **Classical Electrodynamics**. 2nd. ed. [s. l.]: CRC Press, 2024.

SEROHIJOS, A. W. R. *et al.* Structural basis for  $\mu$ -opioid receptor binding and activation. **Structure**, [s. l.], v. 19, n. 11, p. 1683–1690, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.str.2011.08.003>. Acesso em: 1 jun. 2024.

SINGH, M. (Ed.). **Industrial Practices in Weaving Preparatory**. 1st. ed. [s. l.]: WPI Publishing, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1201/9780367805517>.

SKOLNICK, P. The opioid epidemic: Crisis and solutions. **Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.**, [s. l.], v. 58, p. 143–159, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-010617-052534>. Acesso em: 1 jun. 2024.

SOLIS-CALERO, C.; ZANATTA, G.; PESSOA, C. D. de O.; CARVALHO, H. F.; FREIRE, V. N. Explaining the inhibition of urokinase-type plasminogen activator by amino-5-hydroxybenzimidazole and two naphthaimidine-based compounds via quantum biochemistry. **Physical Chemistry Chemical Physics**, [s. l.], v. 20, n. 35, p. 22818–22830, sep 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/c8cp04315a>. Acesso em: 27 jun. 2024.

SONG, X.; BAO, L.; FENG, C. *et al.* Accurate prediction of protein structural flexibility by deep learning integrating intricate atomic structures and cryo-em density information. **Nature Communications**, [s. l.], v. 15, p. 5538, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41467-024-49858x>. Acesso em: 15 jul. 2024.

SOUZA, P. F. N.; AMARAL, J. L.; BEZERRA, L. P.; LOPES, F. E. S.; FREIRE, V. N.; OLIVEIRA, J. T. A.; FREITAS, C. D. T. Ace2-derived peptides interact with the rbd domain of sars-cov-2 spike glycoprotein, disrupting the interaction with the human ace2 receptor. **Journal of Biomolecular Structure & Dynamics**, [s. l.], v. 40, n. 12, p. 5493–5506, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1871415>. Acesso em: 10 jun. 2024.

STRANG, J.; MCDONALD, R.; ALQURSHI, A.; ROYALL, P.; TAYLOR, D.; FORBES, B. Naloxone without the needle - systematic review of candidate routes for non-injectable naloxone for opioid overdose reversal. **Drug and Alcohol Dependence**, [s. l.], v. 163, p. 16–23, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2016.02.042>. Acesso em: 10 jun. 2024.

SULLIVAN, D. C.; MARTIN, E. J. Exploiting structure–activity relationships in docking. **Journal of Chemical Information and Modeling**, [s. l.], v. 48, n. 4, p. 817–830, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ci700439z>. Acesso em: 10 jun. 2024.

TAVARES, A. B. M. L. A.; NETO, J. X. L.; FULCO, U. L.; ALBUQUERQUE, E. L. Inhibition of the checkpoint protein pd-1 by the therapeutic antibody pembrolizumab outlined by quantum chemistry. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 8, n. 1, p. 1840, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-20325-0>. Acesso em: 10 jun. 2024.

TKATCHENKO, A.; SCHEFFLER, M. Accurate molecular van der waals interactions from ground-state electron density and free-atom reference data. **Physical Review Letters**, [s. l.], v. 102, n. 7, p. 073005, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.102.073005>. Acesso em: 10 jun. 2024.

TROTT, O.; OLSON, A. J. Autodock vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading. **Journal of Computational Chemistry**, [s. l.], v. 31, p. 455–461, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jcc.21334>. Acesso em: 10 jun. 2024.

VANOMMESLAEGHE, K.; HATCHER, E.; ACHARYA, C.; KUNDU, S.; ZHONG, S.; SHIM, J.; DARIAN, E.; GUVENCH, O.; LOPES, P.; VOROBYOV, I.; MACKERELL A.D., J. Charmm general force field: A force field for drug-like molecules compatible with the charmm all-atom additive biological force fields. **Journal of Computational Chemistry**, [s. l.], v. 31, n. 4, p. 671–690, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jcc.21367>. Acesso em: 16 jun. 2024.

VO, Q. N.; MAHINTHICHAICHAN, P.; SHEN, J.; ELLIS, C. R. How  $\mu$ -opioid receptor recognizes fentanyl. **Nature Communications**, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 984, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21262-9>. Acesso em: Acesso em: 12 fev. 2024.

VOLPE, D. A.; TOBIN, G. A. M.; MELLON, R. D.; KATKI, A. G.; PARKER, R. J.; COLATSKY, T.; VERBOIS, S. L. Uniform assessment and ranking of opioid mu receptor binding constants for selected opioid drugs. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, [s. l.], v. 59, n. 3, p. 385–390, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2010.12.007>. Acesso em: 27 jun. 2024.

WAAL, P. W. de; SHI, J.; YOU, E.; WANG, X.; MELCHER, K.; JIANG, Y.; XU, H. E.; DICKSON, B. M. Molecular mechanisms of fentanyl mediated  $\beta$ -arrestin biased signaling. **PLoS Comput Biol**, [s. l.], v. 16, n. 4, p. e1007394, 2020. PMID: 32275713; PMCID: PMC7176292. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1007394>. Acesso em: 20 jul. 2024.

WANG, B.; LIU, W.; ZHANG, M. Application of carbon-based adsorbents in the remediation of micro- and nanoplastics. **Journal of Environmental Management**, [s. l.], v. 349, p. 119522, 2024. ISSN 0301-4797. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2023.119522>. Acesso em: 28 jun. 2024.

WANG, S.; CHEN, Y.; LU, Y.; JIANG, D.; LIN, H.; JIANG, Z.; TANG, J.; DONG, W.; ZHAO, J. Interaction of pepper numbing substances with myofibrillar proteins and numbness perception under thermal conditions: A structural mechanism analysis. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 449, p. 139203, 2024. ISSN 0308-8146. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.139203>. Acesso em: 10 jun. 2024.

WANG, X.; RAMÍREZ-HINESTROSA, S.; DOBNIKAR, J.; FRENKEL, D. The lennard-jones potential: when (not) to use it. **Physical Chemistry Chemical Physics**, Royal Society of Chemistry, [s. l.], v. 22, n. 19, p. 10624–10633, 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1039/C9CP05445F>. Acesso em: 1 jul. 2024.

YU, Y.; KLAUDA, J. B. Update of the charmm36 united atom chain model for hydrocarbons and phospholipids. **The Journal of Physical Chemistry B**, American Chemical Society, [s. l.], v. 124, n. 31, p. 6797–6812, 2020. ISSN 1520-6106. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.0c04795>. Acesso em: 27 jun. 2024.

YUDIN, Y.; ROHACS, T. Inhibitory gi/o-coupled receptors in somatosensory neurons: Potential therapeutic targets for novel analgesics. **Mol Pain**, [s. l.], v. 14, p. 1744806918763646, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/1744806918763646>. Acesso em: 9 jun. 2024.

ZARIN, M. K.; DEHAEN, W.; SALEHI, P.; ASL, A. A. B. Synthesis and modification of morphine and codeine, leading to diverse libraries with improved pain relief properties. **Pharmaceutics**, [s. l.], v. 15, n. 6, p. 1779, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15061779>. Acesso em: 9 jun. 2024.

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**, [s. l.], v. 119, n. 7, p. 3599–3605, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1063/1.1591727>. Acesso em: 9 jun. 2024.

ZHOU, H.-X.; PANG, X. Electrostatic interactions in protein structure, folding, binding, and condensation. **Chemical Reviews**, American Chemical Society, [s. l.], v. 118, n. 4, p. 1691–1741, 2018. Disponível em: [10.1021/acs.chemrev.7b00305](https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.7b00305). Acesso em: 28 jun. 2024.

ZHUANG, Y.; WANG, Y.; HE, B.; WANG, M.-W.; XIE, X.; XU, H. E. Molecular recognition of morphine and fentanyl by the human  $\mu$ -opioid receptor. **Cell**, [s. l.], v. 185, n. 23, p. 4361–4375.e19, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.09.041>. Acesso em: 9 jun. 2024.

**APÊNDICE A – DESCRIÇÃO QUÂNTICA DA INTERAÇÃO ENTRE OS RESÍDUOS DO  $\mu$ OR COM A MORFINA E O FENTANIL EM UM RAIOS DE LIGAÇÃO DE 10 Å. OS ÁTOMOS ENVOLVIDOS NA INTERAÇÃO DE LIGAÇÃO TAMBÉM SÃO MOSTRADOS, ALÉM DA DISTÂNCIA, ENERGIA DE INTERAÇÃO, CARGA E NÚMEROS DE ÁGUAS.**

Tabela 5 – Suplementar. Descrição quântica da interação entre os resíduos do  $\mu$ OR e a morfina em um raio de ligação de 10 Å. Os átomos envolvidos na interação também são mostrados (MD1).

$\mu$ -Opioid Receptor Residue	Distance (Å)	Interaction Energy (kcal · mol <sup>-1</sup> )	$\mu$ -Opioid Receptor Residue Charge	Morphine Charge	Morphine Residue	Morphine Atom	Nº Water
ASP149	2.04	-8.41	-1	1	HB1	H6	9
HSD299	2.10	-7.59	0	1	NE2	H19	3
TYR150	2.64	-6.14	0	1	HE1	O3	9
MET153	2.33	-5.24	0	1	HB2	H8	4
TYR238	2.94	-5.08	0	1	HA	H10	4
ILE324	2.55	-4.45	0	1	HD1	H17	3
TRP295	2.65	-3.71	0	1	HH2	H9	3
ILE298	2.24	-3.11	0	1	HG21	H13	3
GLY327	2.18	-2.49	0	1	HA1	H3	4
ASP116	4.86	-2.03	-1	1	OD2	H11	5
ALA119	2.40	-1.68	0	1	HB3	H11	3
ALA298	3.07	-1.40	0	1	HG12	H13	4
TRP320	4.19	-0.90	0	1	HZ2	H16	13
SER331	3.27	-0.69	0	1	OG	H11	6
THR120	4.84	-0.66	0	1	HA	H10	3
VAL302	4.11	-0.62	0	1	HG22	O1	4
ILE146	5.08	-0.62	0	1	HG22	H15	6
PHE154	5.79	-0.50	0	1	HN	H7	4
ALA242	3.82	-0.46	0	1	HB3	H19	3
CYS323	4.88	-0.42	0	1	O	H2	3
VAL145	6.51	-0.40	0	1	O	H5	6
SER147	6.54	-0.30	0	1	O	H6	5
ALA325	5.83	-0.26	0	1	N	H4	3
PHE239	5.44	-0.24	0	1	HA	H19	3
PHE243	5.53	-0.24	0	1	HB2	H19	3
TYR151	5.83	-0.22	0	1	HN	H6	7
TYR77	7.80	-0.19	0	1	OH	H17	4
THR329	5.77	-0.19	0	1	HN	H3	6
PHE322	8.16	-0.18	0	1	O	H4	6
ASN330	4.16	-0.18	0	1	HB1	H12	6
THR296	6.80	-0.18	0	1	O	H13	3
CYS294	5.94	-0.17	0	1	O	H2	3
ALA117	8.08	-0.17	0	1	N	H11	5
LEU123	6.04	-0.17	0	1	HD11	H18	3
PHE291	8.01	-0.15	0	1	HE1	H13	4
ILE157	6.16	-0.11	0	1	HD1	H9	5
ALA115	6.89	-0.10	0	1	O	H11	5
CYS237	8.44	-0.10	0	1	O	H19	3
CYS81	8.92	-0.10	0	1	HA	H10	3
LEU234	7.30	-0.10	0	1	HD21	H15	6
PRO124	9.46	-0.08	0	1	HD2	H10	3
CYS142	9.98	-0.08	0	1	O	H15	9
TYR301	7.47	-0.07	0	1	HB1	H13	4
GLN126	5.12	-0.07	0	1	HG1	H17	6
ILE300	7.13	-0.06	0	1	HN	H13	4
VAL80	7.27	-0.06	0	1	HG13	H10	3
ILE144	9.44	-0.06	0	1	O	H14	8
LEU114	9.92	-0.06	0	1	O	H11	3
PHE241	8.11	-0.06	0	1	C	H19	3
GLY201	9.46	-0.05	0	1	HA2	H14	3
THR122	4.17	-0.05	0	1	HG1	H5	3
CYS219	9.46	-0.05	0	1	O	H16	10
TRP135	9.91	-0.04	0	1	HZ3	H16	6
ILE236	9.27	-0.04	0	1	O	H19	6
SER197	8.90	-0.04	0	1	HG1	H8	3
ILE240	8.31	-0.04	0	1	N	H19	3
LEU221	7.01	-0.03	0	1	HD12	H15	11
ILE303	7.94	-0.03	0	1	HN	H19	3
GLY84	8.96	-0.03	0	1	HA1	H10	3
ILE244	8.83	-0.03	0	1	HN	H19	3
VAL293	9.31	-0.03	0	1	O	H2	3
THR220	8.91	-0.03	0	1	HA	H15	9
SER127	9.49	-0.02	0	1	HN	H17	6
SER156	5.88	-0.02	0	1	HB1	H8	5
VAL204	6.87	-0.01	0	1	HG13	H14	3
VAL247	9.81	0.00	0	1	HG22	H13	3
LEU85	9.19	0.00	0	1	HD21	H11	3
PRO297	7.04	0.00	0	1	C	H13	3
ILE148	5.29	0.01	0	1	O	H6	6
ALA208	9.92	0.01	0	1	HB1	H15	5
ILE200	9.01	0.01	0	1	HG23	H14	3

Fonte: elaborada pelo autor.

Tabela 6 – Suplementar. Descrição quântica da interação entre os resíduos do  $\mu$ OR e a morfina em um raio de ligação de 10 Å. Os átomos envolvidos na interação também são mostrados (MD2).

$\mu$ -Opioid Receptor Residue	Distance (Å)	Interaction Energy (kcal · mol <sup>-1</sup> )	$\mu$ -Opioid Receptor Residue Charge	Morphine Charge	Morphine Residue	Morphine Atom	Nº Water
ASP149	2.14	-18.16	-1	1	OD1	H1	9
HSD299	1.85	-7.25	0	1	NE2	H19	5
MET153	2.35	-6.74	0	1	HE3	H7	7
TYR150	2.95	-6.72	0	1	CZ	H14	9
ILE298	2.08	-4.52	0	1	HG23	H2	5
TRP295	2.58	-4.34	0	1	HE3	H2	6
ILE324	2.53	-4.04	0	1	HG21	H18	5
TYR328	2.47	-2.86	0	1	CZ	H12	6
TRP320	2.94	-1.58	0	1	HZ2	H16	8
GLY327	2.95	-1.42	0	1	HA1	H3	6
ASP116	7.07	-1.35	-1	1	OD1	H10	6
VAL302	3.73	-1.14	0	1	HG23	O1	6
VAL238	2.99	-0.93	0	1	HG11	O1	4
ILE146	5.29	-0.67	0	1	HG22	H15	6
GLU231	9.09	-0.61	-1	1	HG1	H20	15
PHE154	5.57	-0.56	0	1	HE1	H7	4
ALA242	3.47	-0.41	0	1	HB3	H19	5
PHE239	4.80	-0.37	0	1	HA	H19	4
VAL145	6.61	-0.30	0	1	O	H6	6
PHE243	5.15	-0.29	0	1	HB2	H19	5
CYS323	4.81	-0.27	0	1	O	H4	5
ALA325	5.76	-0.26	0	1	N	H4	5
TYR151	6.16	-0.23	0	1	N	H8	10
SER147	6.82	-0.23	0	1	O	H6	6
LEU123	5.30	-0.22	0	1	HD12	H12	4
ALA119	3.98	-0.22	0	1	HB2	H10	6
PHE322	7.69	-0.20	0	1	O	H4	7
HSD321	6.90	-0.16	0	1	HA	H17	8
CYS294	5.60	-0.16	0	1	O	H2	6
LEU234	7.53	-0.14	0	1	HD21	H14	10
CYS237	8.07	-0.14	0	1	C	H19	4
PHE291	8.92	-0.14	0	1	O	H2	5
TYR77	7.33	-0.14	0	1	HH	H17	5
ILE157	5.95	-0.13	0	1	HD3	H9	6
THR120	6.96	-0.13	0	1	N	H10	6
SER331	5.82	-0.12	0	1	OG	H10	8
TYR301	7.52	-0.11	0	1	HN	H13	6
CYS219	8.67	-0.11	0	1	O	H15	14
LEU221	5.98	-0.10	0	1	HD12	H15	11
THR296	6.93	-0.10	0	1	N	H13	6
ALA117	9.94	-0.10	0	1	O	H10	6
PRO124	9.75	-0.09	0	1	N	H12	4
THR122	5.48	-0.09	0	1	HG23	H1	4
PRO297	7.06	-0.09	0	1	C	H13	5
ILE303	7.35	-0.09	0	1	HG12	H19	5
SER197	9.70	-0.09	0	1	HB1	H8	4
THR329	6.49	-0.08	0	1	HN	H11	8
ILE292	9.70	-0.08	0	1	O	H13	5
ALA115	8.31	-0.08	0	1	O	H10	6
SER127	9.65	-0.07	0	1	HG1	H12	8
ASN129	9.84	-0.07	0	1	OD1	H17	10
ILE300	6.63	-0.07	0	1	HN	H13	5
TRP135	9.53	-0.07	0	1	HZ3	H5	11
VAL204	6.43	-0.06	0	1	HG11	H14	4
GLY201	8.99	-0.06	0	1	HA2	H6	4
PHE241	7.55	-0.06	0	1	C	H19	5
ILE148	5.73	-0.05	0	1	O	H8	7
ILE236	8.55	-0.05	0	1	O	H19	9
VAL293	9.04	-0.05	0	1	O	H2	5
ILE240	7.68	-0.04	0	1	N	H19	4
ILE144	9.40	-0.04	0	1	O	H6	5
PHE223	8.35	-0.04	0	1	HZ	H20	11
ILE244	7.80	-0.03	0	1	HN	H19	5
CYS81	9.71	-0.03	0	1	HG1	H12	4
VAL80	7.47	-0.02	0	1	HG11	H12	4
TYR130	9.96	-0.02	0	1	HB2	H17	11
ALA306	9.92	-0.02	0	1	HB2	H20	10
ILE200	7.92	-0.01	0	1	HG23	H7	4
THR220	8.01	0.00	0	1	HA	H15	13
VAL247	9.16	0.00	0	1	HG23	H13	4
LEU118	7.44	0.02	0	1	O	H10	6

Fonte: elaborada pelo autor.

Tabela 7 – Suplementar. Descrição quântica da interação entre os resíduos do  $\mu$ OR e a morfina em um raio de ligação de 10 Å. Os átomos envolvidos na interação também são mostrados (MD3).

$\mu$ -Opioid Receptor Residue	Distance (Å)	Interaction Energy (kcal · mol <sup>-1</sup> )	$\mu$ -Opioid Receptor Residue Charge	Morphine Charge	Morphine Residue	Morphine Atom	Nº Water
ASP149	2.3	-13.9	-1	1	OD1	H1	8
HSD299	1.9	-8.1	0	1	NE2	H19	7
TYR150	2.6	-6.4	0	1	HA	H7	9
MET153	2.3	-6.4	0	1	HB2	H9	7
VAL302	2.5	-5.5	0	1	HG22	H20	7
TRP295	2.9	-3.8	0	1	HZ3	H2	7
ILE298	2.2	-3.8	0	1	HG11	H2	7
ILE324	2.5	-3.4	0	1	HD1	H17	6
TYR328	3.0	-3.1	0	1	CE1	H10	6
TRP320	2.5	-2.2	0	1	HH2	H16	8
GLY327	2.9	-1.6	0	1	HA1	H3	6
ASP116	6.9	-1.4	-1	1	OD2	H10	7
ILE146	4.1	-1.1	0	1	HG23	H14	8
VAL238	2.8	-1.0	0	1	HG13	H19	6
GLU231	7.5	-0.8	-1	1	OE2	H20	16
PHE154	5.6	-0.7	0	1	HN	H7	6
ASN152	4.0	-0.6	0	1	HB2	H8	8
TYR301	6.7	-0.5	0	1	HB1	H4	7
PHE239	4.3	-0.4	0	1	HA	H19	6
ALA242	4.6	-0.4	0	1	HB1	H19	7
CYS323	5.2	-0.4	0	1	O	H4	6
ALA325	6.4	-0.3	0	1	N	H12	6
ILE300	5.6	-0.3	0	1	N	H13	7
SER147	6.4	-0.3	0	1	O	H6	8
VAL145	6.4	-0.3	0	1	O	H6	8
ILE303	5.7	-0.3	0	1	HN	H13	7
PHE243	5.4	-0.3	0	1	HB2	H13	7
LEU221	5.2	-0.2	0	1	HD12	H14	14
ALA119	3.9	-0.2	0	1	HB3	H10	6
TYR151	5.7	-0.2	0	1	N	H7	8
GLN126	5.8	-0.2	0	1	HG1	H18	8
CYS294	6.2	-0.2	0	1	O	H2	7
PHE322	8.6	-0.2	0	1	O	H4	7
TYR77	8.2	-0.2	0	1	HE1	H12	7
THR296	7.1	-0.2	0	1	N	H2	7
LEU123	6.3	-0.2	0	1	HD12	H12	6
PHE291	9.6	-0.1	0	1	O	H2	8
ALA115	7.5	-0.1	0	1	O	H10	7
THR120	7.3	-0.1	0	1	N	H10	6
ILE236	7.7	-0.1	0	1	N	H19	10
SER331	5.5	-0.1	0	1	OG	H10	8
HSD321	7.4	-0.1	0	1	HD1	H17	8
CYS219	8.3	-0.1	0	1	O	H15	14
ILE292	9.7	-0.1	0	1	O	H2	8
ALA117	10.0	-0.1	0	1	N	H10	7
VAL204	6.0	-0.1	0	1	HG11	H14	6
SER197	9.4	-0.1	0	1	HG1	H8	6
CYS237	7.8	-0.1	0	1	C	H19	6
CYS142	9.9	-0.1	0	1	O	H14	12
ILE157	6.2	-0.1	0	1	HD3	H9	7
SER319	9.6	-0.1	0	1	O	H4	7
GLY201	8.6	-0.1	0	1	HA2	H7	6
TRP135	9.3	-0.1	0	1	HZ3	H5	9
THR122	5.6	-0.1	0	1	HG22	H1	6
VAL293	9.2	-0.1	0	1	O	H2	6
PHE241	8.0	-0.1	0	1	HN	H19	7
ILE240	7.5	0.0	0	1	N	H19	6
LEU234	7.7	0.0	0	1	O	H19	11
PHE223	7.5	0.0	0	1	HZ	H20	14
ILE144	9.1	0.0	0	1	O	H6	8
ILE148	5.7	0.0	0	1	O	H8	8
ILE244	8.8	0.0	0	1	HN	H19	7
VAL80	7.4	0.0	0	1	HG12	H12	6
THR220	7.3	0.0	0	1	HA	H15	12
GLN316	9.6	0.0	0	1	HE22	H16	16
ALA306	7.2	0.0	0	1	HB2	H20	16
ILE200	8.6	0.0	0	1	HG23	H7	6
THR329	6.2	0.0	0	1	HN	H12	8
MET207	9.8	0.0	0	1	HB2	H14	8
PRO246	9.7	0.0	0	1	HG1	H13	6
LEU118	7.9	0.0	0	1	C	H10	6

Fonte: elaborada pelo autor.



Tabela 8 – Suplementar. Descrição quântica da interação entre os resíduos do  $\mu$ OR e o fentanil em um raio de ligação de 10 Å. Os átomos envolvidos na interação também são mostrados (MD1).

$\mu$ -Opioid Receptor Residue	Distance (Å)	Interaction Energy (kcal · mol <sup>-1</sup> )	$\mu$ -Opioid Receptor Residue Charge	Fentanyl Charge	Fentanyl Residue	Fentanyl Atom	Nº Water
LYS235	1.66	-7.02	1	1	HZ2	O01	17
CYS219	1.97	-3.69	0	1	HB2	H6	17
ILE298	2.14	-4.65	0	1	HG11	H28	12
ILE324	2.35	-6.97	0	1	HG11	H20	11
VAL238	2.36	-1.16	0	1	HG12	H14	11
VAL145	2.38	-2.22	0	1	HG11	H25	12
ILE146	2.56	-3.77	0	1	HD1	H26	12
TRP295	2.56	-4.25	0	1	HZ3	H10	11
ASP149	2.60	-8.25	-1	1	HB1	H7	12
TRP135	2.62	-3.07	0	1	HZ3	H25	15
HSD299	2.62	-2.68	0	1	NE2	H13	12
MET153	2.66	-1.87	0	1	HG1	H8	11
TYR328	2.70	-4.25	0	1	CZ	H27	13
GLN126	2.76	-3.82	0	1	HE21	C17	14
GLY327	2.81	-1.64	0	1	HA1	H9	13
VAL302	3.04	-1.34	0	1	HG22	O01	13
TYR150	3.20	-2.48	0	1	HH	H16	12
ASN129	3.36	-11.77	-2	1	HD21	H24	22
TRP320	3.37	-3.02	0	1	HZ2	H2	19
CYS323	4.30	-0.38	0	1	O	H9	11
PHE154	4.52	-0.66	0	1	HE2	H11	11
CYS142	4.56	0.06	0	1	HA	H25	14
ALA325	4.59	-0.27	0	1	N	H9	11
ALA119	4.77	-0.30	0	1	HB3	H8	12
THR122	4.79	-0.49	0	1	HB	H26	15
THR220	4.94	-1.17	0	1	HA	H24	15
ASP218	5.02	-1.74	-1	1	OD1	H24	13
TYR77	5.13	-24.68	1	1	OH	H1	12
HSD321	5.24	-3.19	-1	1	HD1	H1	19
LEU326	5.30	0.20	0	1	C	H9	11
PHE243	5.31	-0.13	0	1	HB2	H13	11
PHE239	5.49	-0.11	0	1	HA	H13	11
LEU123	5.53	-0.32	0	1	HD22	H27	15
ALA242	5.58	-0.19	0	1	HB1	H13	11
ILE148	5.93	-0.18	0	1	HG21	H8	12
THR329	6.10	-0.06	0	1	HN	H27	14
ILE157	6.11	-0.07	0	1	HD2	H11	11
LEU221	6.20	-0.28	0	1	HB2	H3	17
PHE125	6.30	-0.15	0	1	HB2	H25	14
ILE300	6.32	0.17	0	1	N	H12	14
SER331	6.33	-0.02	0	1	OG	H27	12
PHE137	6.39	-2.53	0	1	HD2	H25	17
THR210	6.40	0.03	0	1	HG22	H6	21
LEU141	6.43	-0.10	0	1	O	H25	13
GLU231	6.49	-1.40	-1	1	OE2	H18	14
ASN330	6.49	0.06	0	1	HB2	H27	12
ILE303	6.50	-0.10	0	1	HG12	H12	11
SER147	6.62	-0.26	0	1	N	H26	11
THR120	6.70	-0.17	0	1	HG21	H27	12
CYS294	6.75	-0.24	0	1	O	H9	11
ILE217	6.79	-0.10	0	1	O	H6	15
LEU234	6.80	-0.07	0	1	HG	H14	11
TYR130	6.82	-3.59	0	1	HD2	H24	24
TYR301	6.94	-0.20	0	1	HN	H12	13
PRO136	7.00	-2.64	-1	1	HD1	H6	14
VAL80	7.01	0.21	0	1	HG11	H27	11
THR134	7.03	-2.30	1	1	C	H6	18
PHE322	7.04	-0.93	0	1	O	H9	13
PRO297	7.17	0.09	0	1	O	H12	11
LYS143	7.19	0.50	1	1	N	H25	13
ILE144	7.25	-0.09	0	1	O	H26	14
THR209	7.25	-0.23	0	1	O	H6	15
TYR151	7.30	-0.07	0	1	HN	H8	11
ILE236	7.45	-0.24	0	1	N	H14	11
PHE223	7.46	-0.10	0	1	HE2	H18	16
THR296	7.61	-0.06	0	1	O	H12	11
ALA208	7.64	0.06	0	1	HB2	H25	13
ASN152	7.70	-0.07	0	1	C	H8	11
SER156	7.72	0.06	0	1	HB2	H8	11
VAL204	7.95	-0.09	0	1	HG11	H19	11
CYS237	7.97	0.02	0	1	C	H14	11

Fonte: elaborada pelo autor.

Tabela 9 – Suplementar. Descrição quântica da interação entre os resíduos do  $\mu$ OR e o fentanil em um raio de ligação de 10 Å. Os átomos envolvidos na interação também são mostrados (MD2).

$\mu$ -Opioid Receptor Residue	Distance (Å)	Interaction Energy (kcal · mol <sup>-1</sup> )	$\mu$ -Opioid Receptor Residue Charge	Fentanyl Charge	Fentanyl Residue	Fentanyl Atom	Nº Water
ASP149	2.53	-12.03	0	1	HB1	H7	13
ILE324	2.56	-5.62	0	1	HG22	H28	8
TYR328	2.62	-4.59	0	1	HN	H9	8
ILE298	1.93	-4.59	0	1	HG12	H12	9
TRP295	2.41	-3.86	0	1	HH2	H27	8
HSD299	2.47	-3.51	0	1	ND1	H13	9
ILE146	2.95	-2.70	0	1	HD3	H26	11
MET153	2.94	-2.69	0	1	HG2	H8	9
TRP135	2.30	-2.34	0	1	HZ3	H25	13
ASP218	3.11	-2.32	-1	1	OD1	H6	15
VAL302	2.62	-2.18	0	1	HG23	OO1	9
GLN126	2.61	-2.06	0	1	HE21	H3	11
VAL145	2.96	-1.54	0	1	HG11	H26	11
CYS219	2.20	-1.46	0	1	HB2	H25	12
GLY327	2.27	-1.20	0	1	HA1	H9	8
GLU231	8.50	-0.91	-1	1	HG2	H18	15
TRP320	4.69	-0.81	0	1	HZ2	H2	11
TYR150	5.03	-0.72	0	1	HE2	H19	13
ALA129	4.09	-0.70	0	1	HB3	H27	11
PHE325	5.12	-0.38	0	1	HE1	H14	9
VAL154	5.94	-0.31	0	1	HG13	H9	8
LEU233	5.71	-0.27	0	1	HD21	H14	10
PHE220	5.54	-0.27	0	1	HD2	H27	9
TYR336	5.64	-0.25	0	1	HB1	H12	9
CYS219	5.74	-0.24	0	1	O	H27	8
ALA119	5.64	-0.24	0	1	HB3	H9	8
VAL324	7.48	-0.23	0	1	H	H12	9
TYR147	6.66	-0.23	0	1	HD2	H19	16
SER131	5.13	-0.23	0	1	HB2	H4	11
HSD299	6.29	-0.19	0	1	HD1	H3	9
PHE122	5.46	-0.18	0	1	HB3	H26	11
THR149	4.57	-0.17	0	1	HG1	H13	11
PHE221	6.52	-0.16	0	1	HD1	H24	8
GLN294	5.61	-0.15	0	1	OE1	H19	24
LEU216	7.63	-0.13	0	1	HA	H13	10
SER127	5.16	-0.13	0	1	O	H28	8
CYS233	7.82	-0.12	0	1	N	H3	17
PHE322	7.65	-0.12	0	1	HA	H27	10
THR320	7.34	-0.11	0	1	O	H9	8
ILE300	5.38	-0.11	0	1	HN	H13	9
ASP149	2.53	-12.03	0	1	HB1	H7	13
ILE324	2.56	-5.62	0	1	HG22	H28	8
TYR328	2.62	-4.59	0	1	HN	H9	8
ILE298	1.93	-4.59	0	1	HG12	H12	9
TRP295	2.41	-3.86	0	1	HH2	H27	8
HSD299	2.47	-3.51	0	1	ND1	H13	9
ILE146	2.95	-2.70	0	1	HD3	H26	11
MET153	2.94	-2.69	0	1	HG2	H8	9
TRP135	2.30	-2.34	0	1	HZ3	H25	13
ASP218	3.11	-2.32	-1	1	OD1	H6	15
VAL302	2.62	-2.18	0	1	HG23	OO1	9
GLN126	2.61	-2.06	0	1	HE21	H3	11
VAL145	2.96	-1.54	0	1	HG11	H26	11
CYS219	2.20	-1.46	0	1	HB2	H25	12
GLY327	2.27	-1.20	0	1	HA1	H9	8
GLU231	8.50	-0.91	-1	1	HG2	H18	15
TRP320	4.69	-0.81	0	1	HZ2	H2	11
TYR150	5.03	-0.72	0	1	HE2	H19	13
ALA129	4.09	-0.70	0	1	HB3	H27	11
PHE325	5.12	-0.38	0	1	HE1	H14	9
VAL154	5.94	-0.31	0	1	HG13	H9	8
LEU233	5.71	-0.27	0	1	HD21	H14	10
PHE220	5.54	-0.27	0	1	HD2	H27	9
TYR336	5.64	-0.25	0	1	HB1	H12	9
CYS219	5.74	-0.24	0	1	O	H27	8
ALA119	5.64	-0.24	0	1	HB3	H9	8
VAL324	7.48	-0.23	0	1	H	H12	9
TYR147	6.66	-0.23	0	1	HD2	H19	16
SER131	5.13	-0.23	0	1	HB2	H4	11
HSD299	6.29	-0.19	0	1	HD1	H3	9
PHE122	5.46	-0.18	0	1	HB3	H26	11

Fonte: elaborada pelo autor.

Tabela 10 – Suplementar. Descrição quântica da interação entre os resíduos do  $\mu$ OR e o fentanil em um raio de ligação de 10 Å. Os átomos envolvidos na interação também são mostrados (MD3).

$\mu$ -Opioid Receptor Residue	Distance (Å)	Interaction Energy (kcal · mol <sup>-1</sup> )	$\mu$ -Opioid Receptor Residue Charge	Fentanyl Charge	Fentanyl Residue	Fentanyl Atom	Nº Water
ASP149	1.78	-19.26	-1	1	OD1	H29	14
ILE324	1.98	-6.09	0	1	HG23	H12	8
ILE146	2.13	-4.65	0	1	HG1	H8	9
ILE298	2.15	-4.31	0	1	HG11	H28	7
GLN126	2.27	-4.31	0	1	HB2	H6	17
TYR328	2.32	-3.77	0	1	HH2	H27	7
TRP295	2.35	-3.55	0	1	HG12	H12	8
TRP320	2.37	-2.99	0	1	HG13	H26	8
VAL145	2.43	-2.77	0	1	HA1	H9	8
TRP135	2.46	-2.42	0	1		H4	8
TYR150	2.59	-2.40	0	1	NE2	H13	8
CYS219	2.66	-2.29	0	1	HZ3	H25	12
HSD299	2.78	-2.26	0	1	HG12	H26	8
VAL302	2.85	-1.57	0	1	HG11	H14	7
MET153	2.87	-1.47	0	1	HE2	H19	15
VAL238	2.96	-1.34	0	1	HZ2	H15	12
GLU231	3.02	-0.83	0	1	CE2	H27	8
HSD321	3.40	-0.80	0	1	OD1	C17	14
ASP116	4.20	-0.74	0	1	HA	H25	9
ASP218	4.40	-0.70	-1	1	HG1	H3	8
GLY327	4.48	-0.68	0	1		O	9
ASN129	4.98	-0.63	0	1	HE1	H11	9
THR220	5.04	-0.47	0	1	HB2	H13	8
PHE154	5.09	-0.42	0	1		N	6
SER147	5.11	-0.39	-1	1	HA	H6	16
CYS142	5.30	-0.34	0	1		N	9
THR122	5.35	-0.34	0	1		C	7
ALA325	5.37	-0.33	0	1		O	10
LEU221	5.45	-0.32	0	1	HD2	H2	12
TYR301	5.45	-0.31	1	1	HA	H14	11
PHE239	5.54	-0.23	0	1	HA	H13	7
ALA119	5.61	-0.23	0	1	HB3	H13	8
LEU234	5.64	-0.21	0	1	HB3	H27	7
TYR77	5.67	-0.20	0	1	HD22	H16	11
PHE243	5.69	-0.20	0	1	HB1	H12	8
PHE125	5.70	-0.20	0	1	HD23	H19	15
LEU123	5.73	-0.20	0	1	HD2	H8	7
ALA242	5.78	-0.19	0	1		O	9
CYS294	5.81	-0.16	1	1	HE2	OO1	15
CYS323	5.82	-0.16	0	1	HB2	H25	8
THR317	5.99	-0.15	0	1		N	7
ILE144	6.04	-0.14	0	1	HH	H1	8
LEU141	6.07	-0.13	0	1	HN	H9	8
TYR130	6.10	-0.12	0	1	HG21	H6	17
PHE322	6.11	-0.12	0	1	HN	H12	7
ILE217	6.15	-0.12	0	1		O	7
VAL128	6.24	-0.11	0	1	HB	H27	7
THR139	6.33	-0.11	0	1	OG	H27	12
PHE291	9.73	-0.10	0	1	HE1	H12	8
GLY209	6.42	-0.10	0	1	HG13	H19	7
THR329	6.44	-0.10	0	1	HA	H9	18
THR134	6.55	-0.09	0	1	O	H25	9
ALA115	6.62	-0.09	0	1	N	H12	9
VAL204	6.64	-0.09	0	1	HD2	H25	10
ILE157	6.85	-0.08	0	1	O	H26	11
ILE303	6.90	-0.08	1	1	HB2	H25	11
ILE140	6.94	-0.08	0	1	N	H25	7
PHE223	6.98	-0.08	0	1	HA	H24	15
SER127	7.02	-0.07	0	1	O	H12	7
ILE148	7.13	-0.07	0	1	C	H8	8
ILE300	7.26	-0.07	0	1	O	H6	12
PHE137	7.55	-0.06	0	1	C	H6	12
SER331	7.67	-0.06	0	1	O	H9	9
TYR151	7.73	-0.06	0	1	HB2	H27	8
LEU118	7.79	-0.05	0	1	HA	H27	7
THR222	7.80	-0.05	0	1	O	H12	7
THR210	7.84	-0.04	0	1	HD2	H6	12
VAL293	7.86	-0.04	1	1	O	H25	12
SER216	8.12	-0.04	0	1	HN	H6	21
PRO136	8.16	-0.04	0	1	HG12	H14	7
ILE236	8.17	-0.04	0	1	C	H14	7

Fonte: elaborada pelo autor.