

# COMPARAÇÃO DO BLOQUEIO DE CANAL DE CÁLCIO VASCULAR PROMOVIDO POR VERAPAMIL E NIFEDIPINA POR MODELAGEM MOLECULAR

*Comparison of vascular calcium channel block promoted by verapamil and nifedipine by molecular modeling*

**Adilson Lima Dos Santos Júnior<sup>1</sup>, Clara de Assis Karoline Oliveira<sup>1</sup>,  
Marcus Vinícius Guerra Canto<sup>1</sup>, Joelmir Lucena Veiga da Silva<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> PRODIIC-Faculdade de Medicina de Olinda; <sup>2</sup> Docente-Faculdade de Medicina de Olinda

Recebido: 08.maio.2022 | Aprovado: 25.agosto.2022

## RESUMO

As doenças cardiovasculares são extensamente estudadas devido aos seus riscos e prevalência mundial. Sendo assim, a pesquisa por novos tratamentos é um processo contínuo e as substâncias isoladas de plantas são uma fonte promissora de fármacos. Atualmente, análises de modelagem molecular são realizadas para compreender a relação entre estrutura-função de um alvo farmacológico e suas interações proteína-ligante, e assim o mecanismo exato da ação farmacológica. Diante disso, este trabalho visou comparar o bloqueio do canal de cálcio dependente de voltagem promovido por verapamil e nifedipina com análises de modelagem molecular. Os experimentos de docking molecular foram realizados usando o portal DockThor e análises com o programa Chimera. As energias de afinidade foram comparadas utilizando o programa GraphPad Prism, com o teste "t", em que valores de  $p < 0,05$  foram considerados significantes. Os resultados mostram que o verapamil teve uma afinidade maior do que a de nifedipina ( $p < 0,0001$ ). As simulações de configuração no canal foram diferentes, cada uma bloqueando o seu poro, o que impede o influxo de cálcio na célula. Estes dados serão úteis para comparar à prospecção de novas drogas que bloqueiam o canal de cálcio.

**Palavras-chave:** Agentes anti-hipertensivos; bloqueador de canal de cálcio; modelagem molecular.

## ABSTRACT

Cardiovascular diseases are extensively studied due to their risks and global prevalence. Thus, searching for new treatments is an ongoing process, and plant-derived compounds are a promising source of drugs. Nowadays, molecular modeling analyses are conducted to understand the structure-function relationship of a pharmacological target and its protein-ligand interactions (i.e., the exact mechanism of pharmacological action). This study aimed to compare the voltage-dependent calcium channel (CaV) blockade promoted by verapamil and nifedipine using molecular modeling analyses. Tests and analyses were performed using the DockThor and Chimera programs, respectively. The t-test was used to compare the affinity energies. Data analysis occurred in the GraphPad Prism software; statistical significance was set at  $p < 0.05$ . Verapamil had a higher affinity than nifedipine ( $p < 0.0001$ ). Although the drugs presented different binding sites, they successfully blocked the CaV and prevented the calcium influx into the cell. These findings could be useful for the prospect of new drugs that block CaV.

**Keywords:** Antihypertensive agents; calcium channel blocker; docking molecular.

## INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares são extensamente estudadas devido aos seus riscos e prevalência mundial. No Brasil, são a principal causa de morte, embora estejam diminuindo.<sup>1</sup> Desta forma, a pesquisa por novos tratamentos é um processo contínuo e as substâncias isoladas de plantas são uma promissora fonte de fármacos.<sup>2</sup>

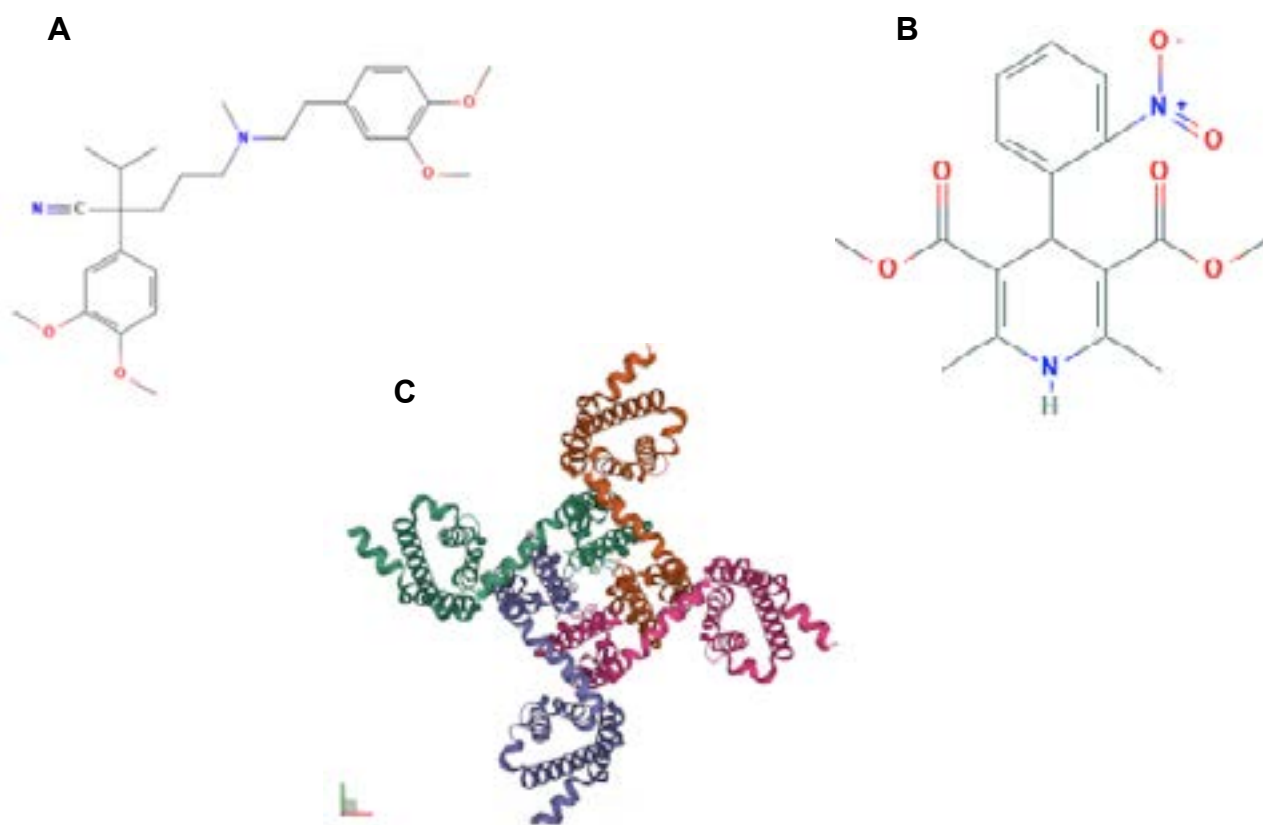
Atualmente, análises de modelagem molecular são realizadas para compreender a relação entre estrutura e função de um alvo farmacológico e suas interações proteína-ligante.<sup>3-6</sup> Estas análises trazem não somente a informação da dinâmica estrutural das moléculas teste, como também a energia do sítio de ligação entre a proteína e o produto teste, fundamentais para caracterizar mecanismo de ação de drogas.<sup>7</sup>

No controle da pressão arterial, a subunidade alfa-1C dos canais-Ca<sup>2+</sup> do tipo L (CaV1.2) é a principal via de entrada de Ca<sup>2+</sup> e sua ativação leva à entrada deste na matriz extracelular e aumenta a concentração de cálcio citoplasmática, resultando em vasoconstrição.<sup>8-10</sup> No tratamento da hipertensão clínica, alguns blo-

queadores de CaV **são usados**.<sup>11-13</sup> Estes são classificados em dois tipos básicos: os di-hidropiridínicos e os não di-hidropiridínicos. Os dihidropiridínicos (anlodipina, nifedipina e felodipino) exercem efeito vasodilatador predominante, com mínima interferência na frequência cardíaca e na função sistólica, justificando seu uso como medicamentos anti-hipertensivos. Os não di-hidropiridínicos, como as difenil-quilaminas (verapamil) e as benzotiazepinas (diltiazem), têm menor impacto vasodilatador e agem na musculatura e no sistema de condução cardíacos. Por isso, reduzem a frequência cardíaca, exercem efeitos antiarrítmicos e podem deprimir a função sistólica.<sup>14</sup> Assim, este trabalho objetivou comparar o bloqueio do CaV promovido por verapamil e nifedipina através de análise de modelagem molecular.

## MATERIAL E MÉTODOS

Tratou-se de uma pesquisa quantitativa e experimental. Foram utilizados verapamil (CID 2520, Figura 1A) e nifedipina (CID 4485, Figura 1B) obtidos do banco de dados PubChem.<sup>15</sup> A estrutura homóloga do CaV (ID 4MS2) foi obtida do repositório público *Protein Data Bank* (Figura 1C).



**Figura 1.** Estrutura molecular do verapamil (A, C<sub>27</sub>H<sub>38</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>), da nifedipina (B, C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>) e da proteica 3D do CaV (C).

## ARTIGO

Os experimentos de modelagem molecular foram realizados por meio de pesquisa no portal online DockThor.<sup>16</sup> Já os resultados das simulações das substâncias foram estabelecidos em ordem de maior afinidade com a proteína, o CaV. As três melhores configurações das substâncias com maior afinidade no alvo foram escolhidas para análises mais aprofundadas e os posicionamentos apresentados pelo programa Chimera (versão 1.14).

As energias de afinidade foram analisadas pelo programa GraphPad Prism, utilizando o teste “t” para comparar os resultados de verapamil e da nifedipina, em que valores de  $p <$

0,05 foram considerados significantes.

## RESULTADOS

Foram realizados 1.000.000 posicionamentos para os fármacos (verapamil e nifedipina) no CaV. Destes, os três melhores estão representados na Tabela 1 pelas energias de ligação dos compostos no canal iônico. Quanto menor a energia, mais estável a molécula, devido às ligações químicas (hidrofóbicas e eletrostáticas) estabelecidas. Nota-se que o verapamil apresentou afinidade significativamente maior do que a nifedipina.

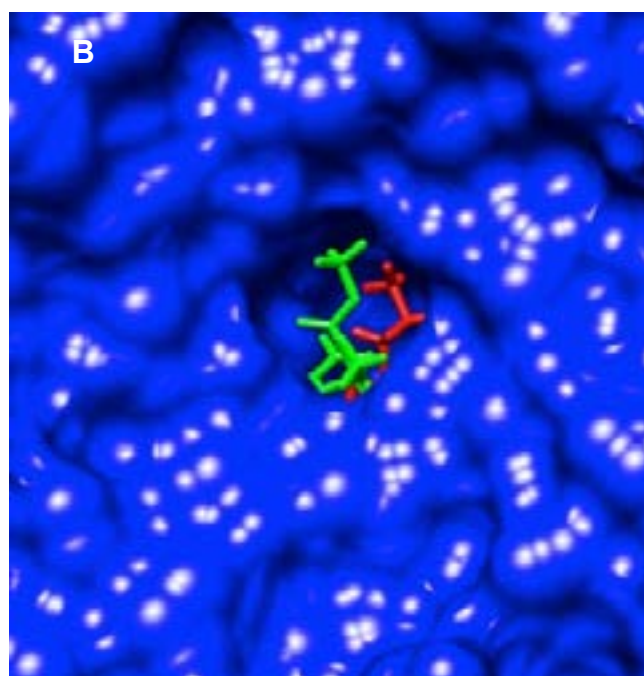
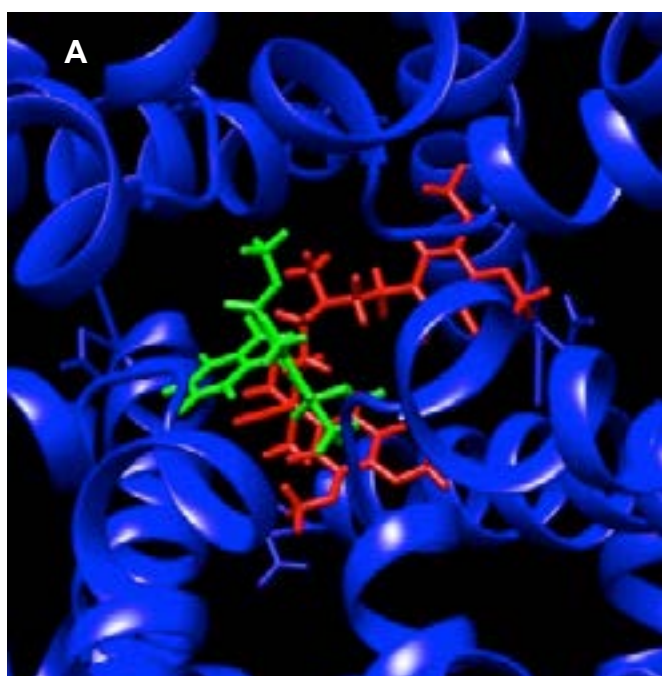
**Tabela 1.** Afinidades de ligação dos fármacos no canal CaV.

Fármaco	Afinidade (kcal/mol) média $\pm$ e.p.m
verapamil	-9.696 $\pm$ 0,08*
nifedipina	- 8.031 $\pm$ 0.009

Kcal/mol: quilocaloria por mol; EPM: erro padrão da média; \* $p < 0,0001$  (verapamil vs. nifedipina), teste t

A análise da configuração dos fármacos na estrutura 3D do CaV revelou posicionamentos próximos na região do poro do canal, mas em sítios distintos da ligação do verapamil e da nifedipina (Figura 2) aos resíduos de aminoáci-

dos. Percebe-se a localização das substâncias obstruindo o poro do canal, o que leva ao bloqueio do influxo dos íons cálcio para o interior das células.



**Figura 2.** Posicionamento do verapamil (vermelho) e da nifedipina (verde) na estrutura 3D do canal CaV (azul). **A:** estrutura proteica quaternária; **B:** estrutura proteica hidrofóbica.

## DISCUSSÃO

Os canais de cálcio dependentes de voltagem possuem uma grande subunidade que forma o poro, denominada  $\alpha_1$ , composta por quatro domínios homólogos, cada um com seis segmentos transmembranares e uma alça que forma o poro<sup>17</sup>, como ilustrado na Figura 1C.

Os bloqueadores de CaV do tipo fenilalquilamina, como o verapamil (Figura 1A), são utilizados no tratamento de arritmias atriais, assim como os benzotiazepínicos, por exemplo, diltiazem.<sup>18</sup>

Houve diferentes afinidades apresentadas por verapamil e nifedipina (Tabela 1), respectivamente, o primeiro apresentou maior afinidade. Isto pode ser resultado do verapamil ter uma cadeia carbônica mais longa, o que facilita mais interações com os resíduos de aminoácidos que formam o poro do canal, do que a nifedipina, que possui uma cadeia menor. As fenilalquilaminas têm dois anéis aromáticos ligados por uma cadeia alifática central, contendo um grupo amino terciário que são capazes de entrar na abertura externa do poro através da comporta de ativação aberta e se ligar a um sítio receptor específico em uma forma protonada carregada positivamente.<sup>18,19</sup>

Já as diidropiridinas, como a nifedipina (Figura 1B), interagem com os seguimentos S6 nos domínios III e IV, o que leva a uma proposta de modelo interface-domínio para ligação e ação do fármaco.<sup>17,20</sup> Outro estudo de modelagem molecular sugere que esses resíduos de aminoácidos estão na face do lúmen do poro e cooperam para constituir o sítio de ligação do fármaco.<sup>21</sup>

Outros bloqueadores diidropiridínicos de CaV, como nimodipina, benidipina e amlodipina já foram avaliados sobre a orientação no bloqueio dos canais de cálcio do tipo-L (CaV1.2).<sup>22</sup> Resultados semelhantes à nifedipina (Figura 2) foram obtidos por uncarilane A, um alcaloide isolado de *Uncaria rhynchophylla*, planta utilizada pela medicina tradicional chinesa. Por simulação molecular, o alcaloide inibiu o CaV, permitindo a inibição do influxo de cálcio.<sup>23</sup>

Os achados deste estudo quanto ao bloqueio do CaV exercido pelo verapamil e nifedipina

por modelagem molecular como bloqueadores padrão, em especial, de uso na clínica cardiovascular, servirão para comparação com novas moléculas com potencial efeito em bloquear este canal.

## CONCLUSÃO

Conclui-se que a nifedipina e o verapamil bloqueiam o CaV por diferentes interações dentro do canal, sendo que o verapamil tem uma maior afinidade. Estes dados serão úteis para comparar à prospecção de novas drogas que possam bloquear o CaV.

## REFERÊNCIAS

- Schmidt MI, Duncan BB, Azevedo-Silva G et al. Chronic non-communicable diseases in Brazil: burden and current challenges. *Lancet* 2011;377:1949-1961.
- Calixto JB. The role of natural products in modern drug discovery. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 2019;9(Suppl. 3):e20190105.
- Liu X, Shi D, Zhou S, Liu H, Liu H, Yao X. Molecular dynamics simulations and novel drug discovery, *Expert Opinion on Drug Discovery* 2018, 13;23-37.
- Ning J, Liu T, Dong P, Wang W, Ge G, Wang B, Yu Z, Shi L, Tian X, Huo X, Feng L, Wang C, Sun C, Cui J, James TD, Ma X. Molecular Design Strategy to Construct the Near-Infrared Fluorescent Probe for Selectively Sensing Human Cytochrome P450 2J2, *J Am Chem Soc* 2019, 141(2);1126-1134.
- Ning J, Wang W, Ge G, Chu P, Long F, Yang Y, Peng Y, Feng L, Ma X, James TD. Target Enzyme-Activated Two-Photon Fluorescent Probes: A Case Study of CYP3A4 Using a Two-Dimensional Design Strategy. *Angew Chem Int Ed Engl* 2019, 58;9959-9963.
- Knox M, Vinet R, Fuentes L, Morales B, Martinez JL. A Review of Endothelium-Dependent and -Independent Vasodilation Induced by Phytochemicals in Isolated Rat Aorta. *Animals (Basel)* 2019, 9(9).
- Teixeira LR, Silva Júnior JJ, Vieira PHS, Canto MVG, Figueirêdo AGM, Silva JLV. Tamoxifen inhibits the anion channel induced by *Staphylococcus aureus*  $\alpha$ -hemolysin: electrophysiological and docking analysis. *RSD [Internet]*. 2021;10(2):e13010212326.
- Goldstein JA, Bastarache LA, Denny JC, Roden DM, Pulley JM, Aronoff DM. Calcium channel blockers as drug repurposing candidates for gestational diabetes: Mining large scale genomic and electronic health records data to repurpose medications, *Pharmacol Res*

## ARTIGO

2018, 130;44-51.

9. Yu B, Jiang Y, Zhang B, Yang H, Ma T, Resveratrol dimer trans-epsilon-viniferin prevents rotaviral diarrhea in mice by inhibition of the intestinal calcium-activated chloride channel, *Pharmacol Res* 2018, 129;453-461.
10. Hansen PB. Functional and pharmacological consequences of the distribution of voltage-gated calcium channels in the renal blood vessels. *Acta Physiol (Oxf)* 2013, 207(4);690-699.
11. Kario K, Ando S, Kido H, Nariyama J, Takiuchi S, Yagi T, Shimizu T, Eguchi K, Ohno M, Kinoshita O, Yamada T. The effects of the L/N-type calcium channel blocker (cilnidipine) on sympathetic hyperactive morning hypertension: results from ACHIEVE-ONE. *J Clin Hypertens (Greenwich)* 2013, 15(2);133-142.
12. Masaki M, Mano T, Eguchi A, Fujiwara S, Sugahara M, Hirotsu S, Tsujino T, Komamura K, Koshihara M, Masuyama T, Long-term effects of L- and N-type calcium channel blocker on uric acid levels and left atrial volume in hypertensive patients, *Heart Vessels* 2016, 31(11);1826-1833.
13. Seino H, Miyaguchi S, Yamazaki T, Ota S, Yabe R, Suzuki S. Effect of benidipine hydrochloride, a long-acting T-type calcium channel blocker, on blood pressure and renal function in hypertensive patients with diabetes mellitus. Analysis after switching from cilnidipine to benidipine, *Arzneimittelforschung* 2007, 57(8);526-531.
14. Barroso WKS et al. Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial. *Arq Bras Cardiol.* 2021; 116(3):516-658.
15. PubChem. National Center for Biotechnology Information. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>
16. Magalhães CS, Almeida DM, Barbosa HJC, Dardenne LE. A dynamic niching genetic algorithm strategy for docking of highly flexible ligands. *Information Sciences* 2014, 289;206–24.
17. Catterall WA, Perez-Reyes E, Snutch TP, Striessnig J. International Union of Pharmacology. XLVIII. Nomenclature and structure-function relationships of voltage-gated calcium channels. *Pharmacol Rev* 2005, 57:411–425.
18. Sampson KJ, Kass RS. (2011) Anti-arrhythmic drugs, in Goodman & Gilman's *The Pharmacological Basis of Therapeutics* (Brunton L ed). McGraw-Hill Co., New York; 2011, p.815–848.
19. Catterall WA, Swanson TM. Structural Basis for Pharmacology of Voltage-Gated Sodium and Calcium Channels. *Mol Pharmacol* 2015, 88:141–150.
20. Catterall WA and Striessnig J (1992) Receptor sites for Ca<sup>2+</sup> channel antagonists. *Trends Pharmacol Sci* 1992, 13:256–262.
21. Cheng RC, Tikhonov DB, Zhorov BS. Structural model for phenylalkylamine binding to L-type calcium channels. *J Biol Chem* 2009, 284:28332–28342.
22. Tikhonov DB, Zhorov BS. Structural Model for Dihydropyridine Binding to L-type Calcium Channels. *J Biol Chem.* 2009;284(28):19006-17.
23. Yun W-J, Zhang X-Y, Liu T-T, Liang J-H, Sun C-P, Yan J-K, Huo X-K, Tian X-G, Zhang B-J, Huang H-L, Ma X-C. The inhibition effect of uncarialin A on voltage-dependent L-type calcium channel subunit alpha-1C: Inhibition potential and molecular stimulation. *Int J Biol Macromol.* 2020;159:1022-1030.