

Caracterização Conformacional da Saponina QS-21 e as Implicações na Formação Micelar

Pedebos, C.; Pol-Fachin, L.; Teixeira, C. V. and Verli, H.
Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular,
Instituto de Física – UFRGS, Porto Alegre, Brasil
Centro de Biotecnologia – Faculdade de Farmácia - UFRGS, Porto Alegre, Brasil;
www.cbiof.ufrgs.br/bioinfo

Grupo de
**Bioinformática
Estrutural**
Centro de Biotecnologia / UFRGS

PPGBCM
CBiot/UFRGS

UFRGS
UNIVERSIDADE FEDERAL
DO RIO GRANDE DO SUL

1. Introdução

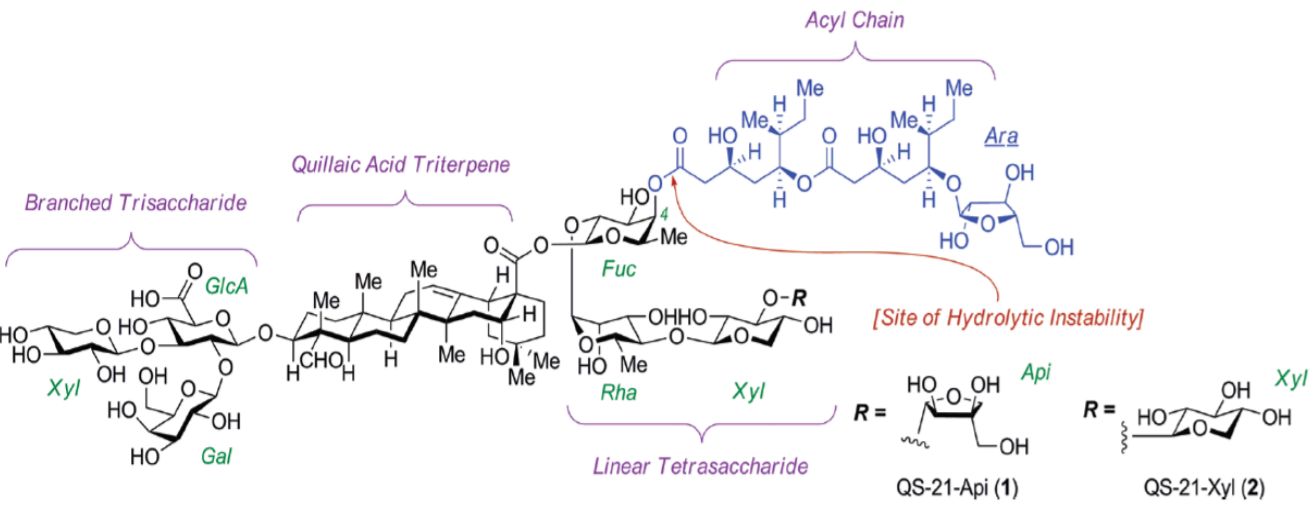


Figura 1. Estrutura da saponina QS-21 que é extraída da árvore *Quillaja saponaria*. É composta de uma mistura de isômeros (QS-21 A e QS-21 B – 94:6% e R = Apiose ou Xilose – 65:35%). Adaptado de Adams et al, 2010. [1]

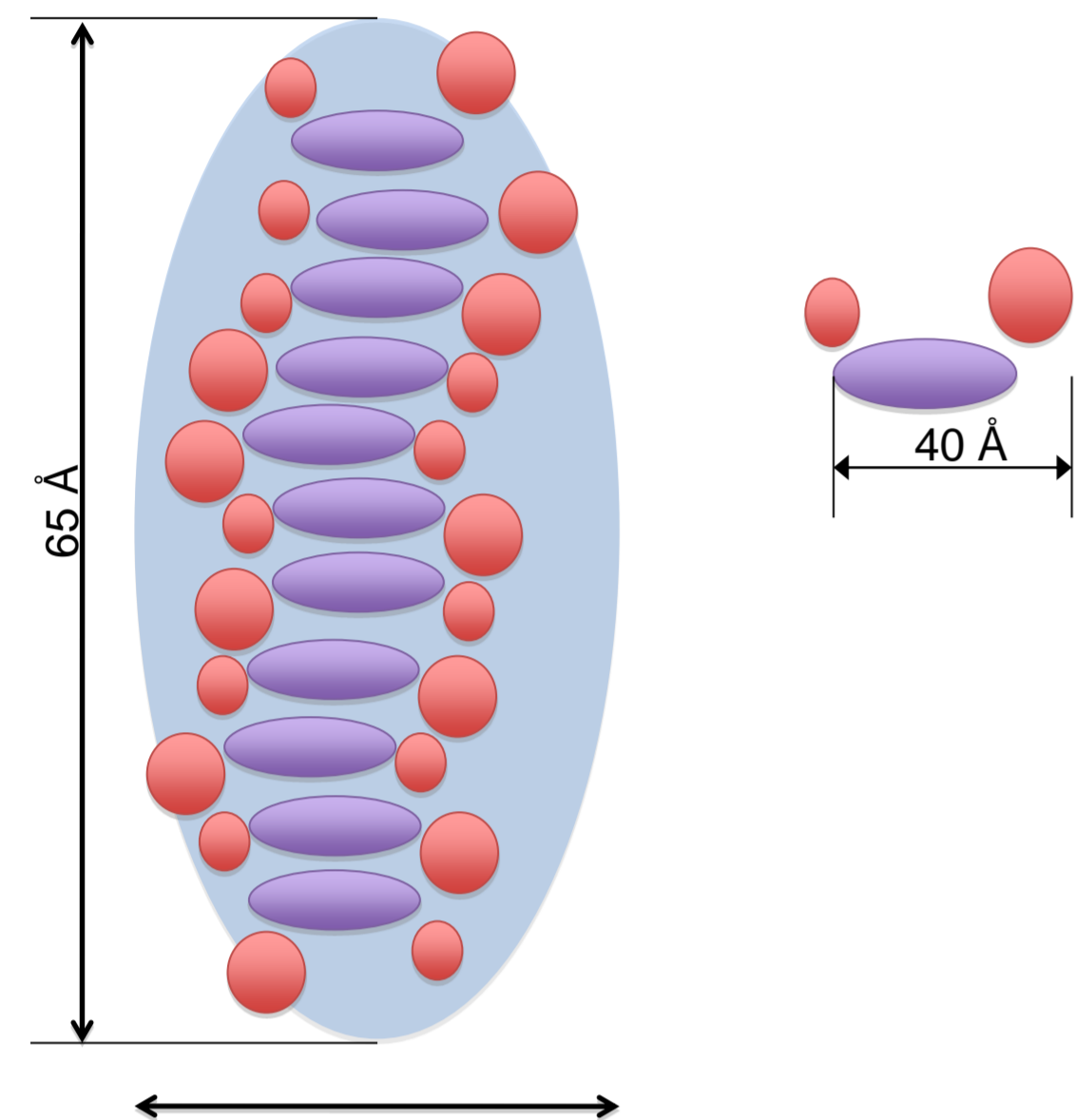


Figura 2. Proposição de uma possível formação da micela da saponina QS-21 e suas dimensões, obtidas por dados de SAXS [2]. As porções em roxo indicam os triterpenos e as cadeias acila, enquanto em vermelho estão indicadas as porções sacarídicas.

Tabela 1. Propriedades biológicas e dificuldades relacionadas a saponina QS-21. A instabilidade química destaca-se como o grande problema, devido a degradação da ligação éster entre a fucose e a cadeia acila, diminuindo a atividade imunoadjuvante [3].

Propriedades biológicas	Dificuldades
Imunoadjuvante	Instabilidade química
Antiglicêmica e Antitumoral	Alta variabilidade da composição molecular
Redução dos níveis de colesterol plasmático	Toxicidade dose-limitante
Ação no sistema cardiovascular	Formação micelar

2. Objetivos

A compreensão do comportamento molecular da QS-21 e seus efeitos nas membranas biológicas pode auxiliar estudos envolvendo o desenvolvimento de imunopotenciadores. Neste contexto, o presente trabalho busca analisar e avaliar o processo de formação micelar da saponina QS-21, bem como a forma adotada pela micela, inclusive com a caracterização da coleção conformacional inerente a esse biocomposto.

3. Metodologia

A) Building blocks: Para determinar a conformação da QS-21, foi empregada a metodologia de building blocks [4], em que as mínimas unidades componentes, com maior prevalência, da molécula são utilizadas na montagem do composto como um todo.

B) Construção dos mapas de contorno:

β -D-Xil-(1→3)- β -D-GlcA
 β -D-Gal-(1→2)- β -D-GlcA
 β -D-GlcA-(1→3)-Ácido Quiláico
Ácido Quiláico-(28→1)- β -D-Fuc

β -D-Fuc-(2→1)- α -L-Ram
 α -L-Ram-(4→1)- β -D-Xil
 β -D-Xil-(3→1)- β -D-Api

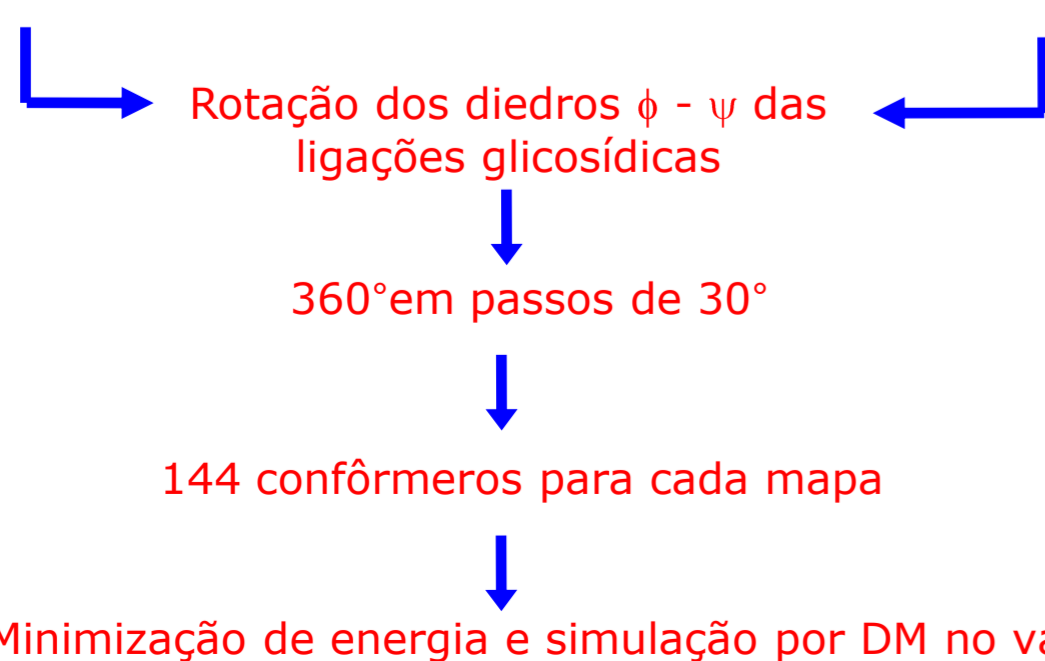


Figure 3. Esquema do protocolo empregado no estudo conformacional das ligações glicosídicas que compõem a QS-21, seguindo metodologia prévia do grupo [5-11].

C) Refinamento em solução: as geometrias de menor energia, obtidas a partir dos mapas de contorno, foram submetidas a Dinâmica Molecular em solução aquosa, por 100 ns, utilizando o pacote do GROMACS [12] e o campo de força GROMOS96 43a1 [13].

4. Resultados

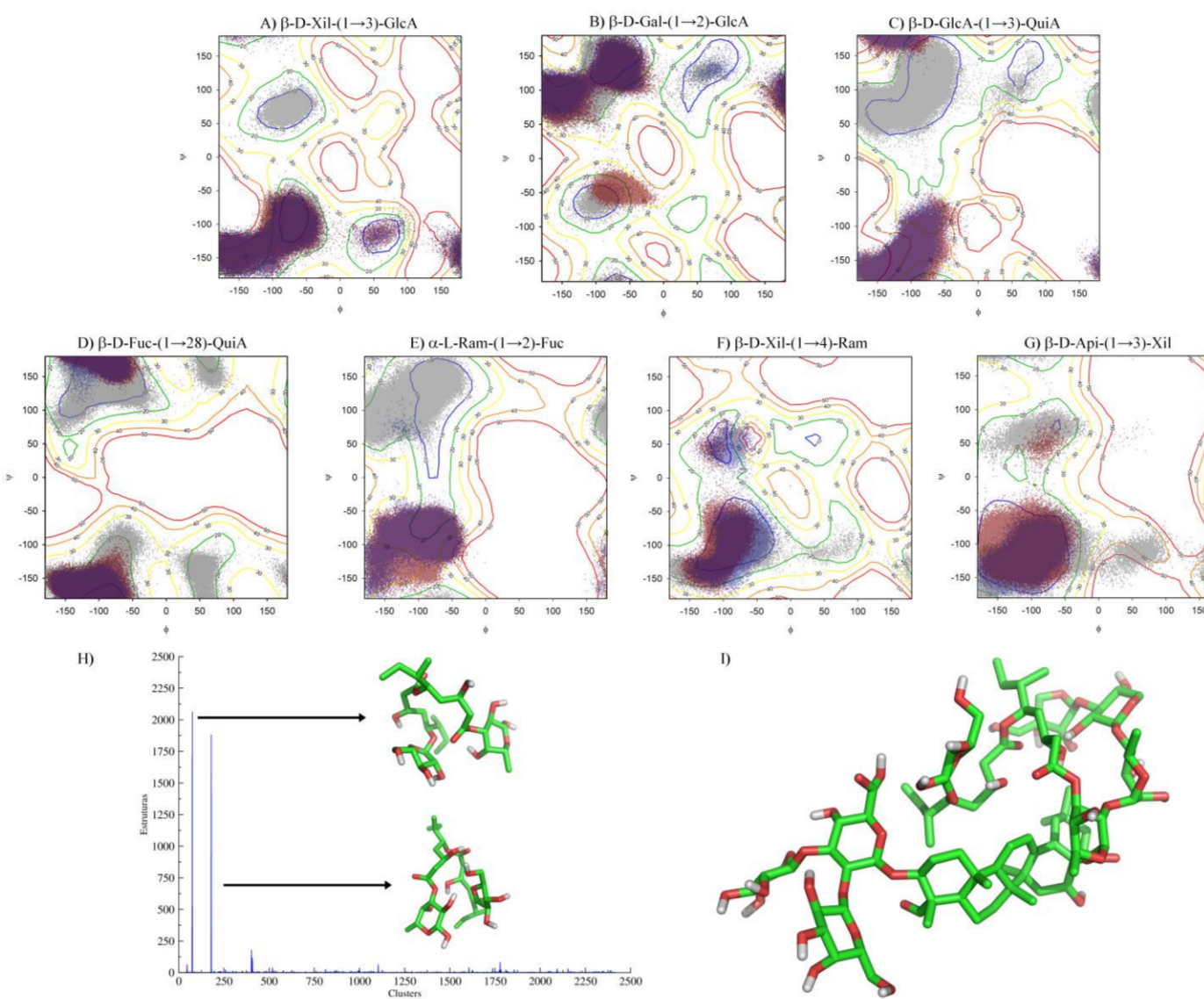


Figura 4. A-G) Mapas de contorno dos dissacarídeos que compõem a saponina QS-21. Os mapas de energia mostram as curvas a cada -10 kJ/mol, de -10 a 50 kJ/mol. As geometrias populadas em solução, retiradas das simulações de DM, estão sobrepostas aos mapas, de forma que os pontos cinza representam o dissacarídeo na forma isolada, enquanto os pontos vermelhos representam o dissacarídeo na molécula completa a 298K e com o GlcA protonado (pH = 2) e os pontos azuis representam a molécula em 310K e com o GlcA não protonado; H) Representação das estruturas mais prevalentes em solução (Cluster nº 75 e 180) para a unidade Fuc-Acila-Ara; I) Representação da estrutura da QS-21 na sua conformação mais prevalente em solução.

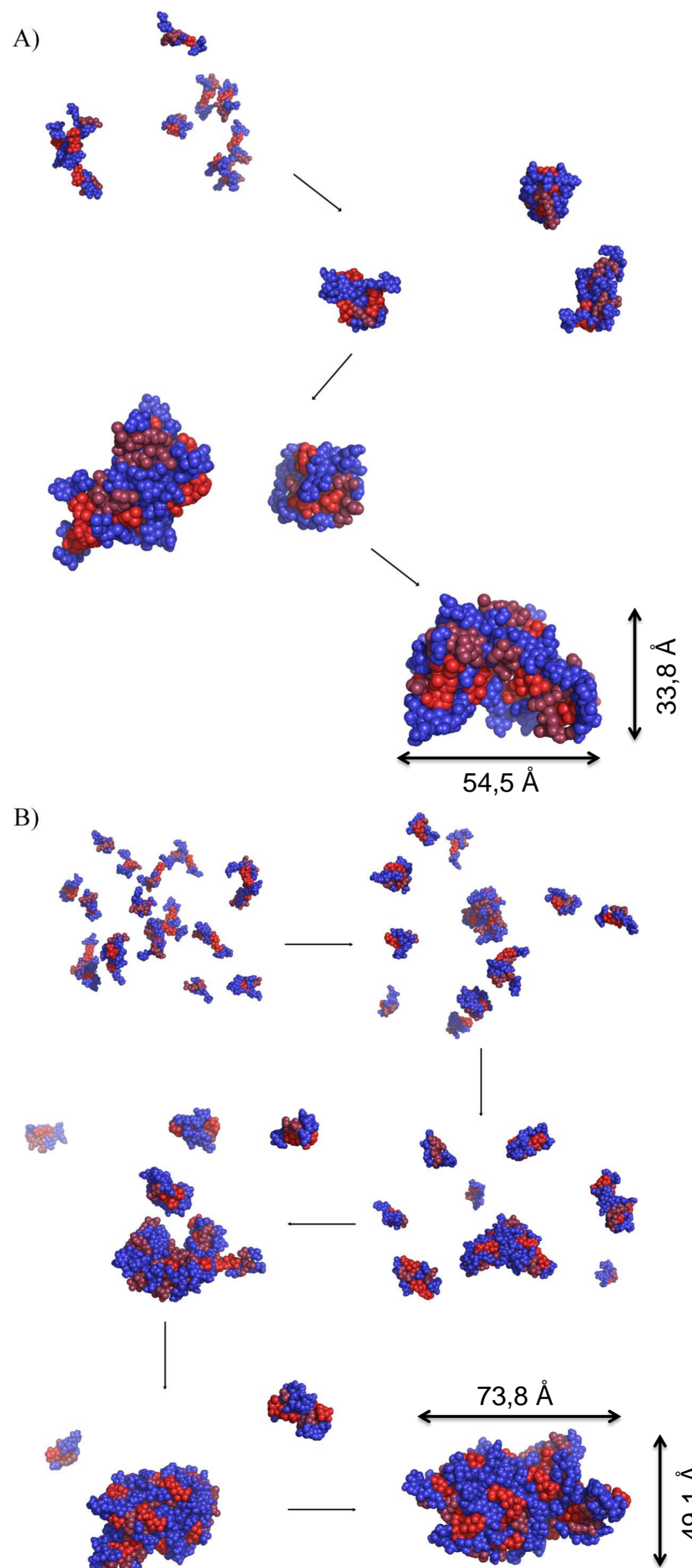


Figura 5. Formação de uma micela de 10 moléculas e uma de 20 moléculas de QS-21. A) Início da simulação; formação das primeiras três micelas (10 ns); formação de duas micelas (20 ns); formação da micela final (40ns). B) Início da simulação; micelas iniciais (10 ns); Micelas maiores (20 ns); formação da micela maior (30ns); micela quase formada (45ns) e formação final (70 ns). Os carboidratos estão representados em azul, enquanto os triterpenos e acilas estão em vermelho e marrom, respectivamente.

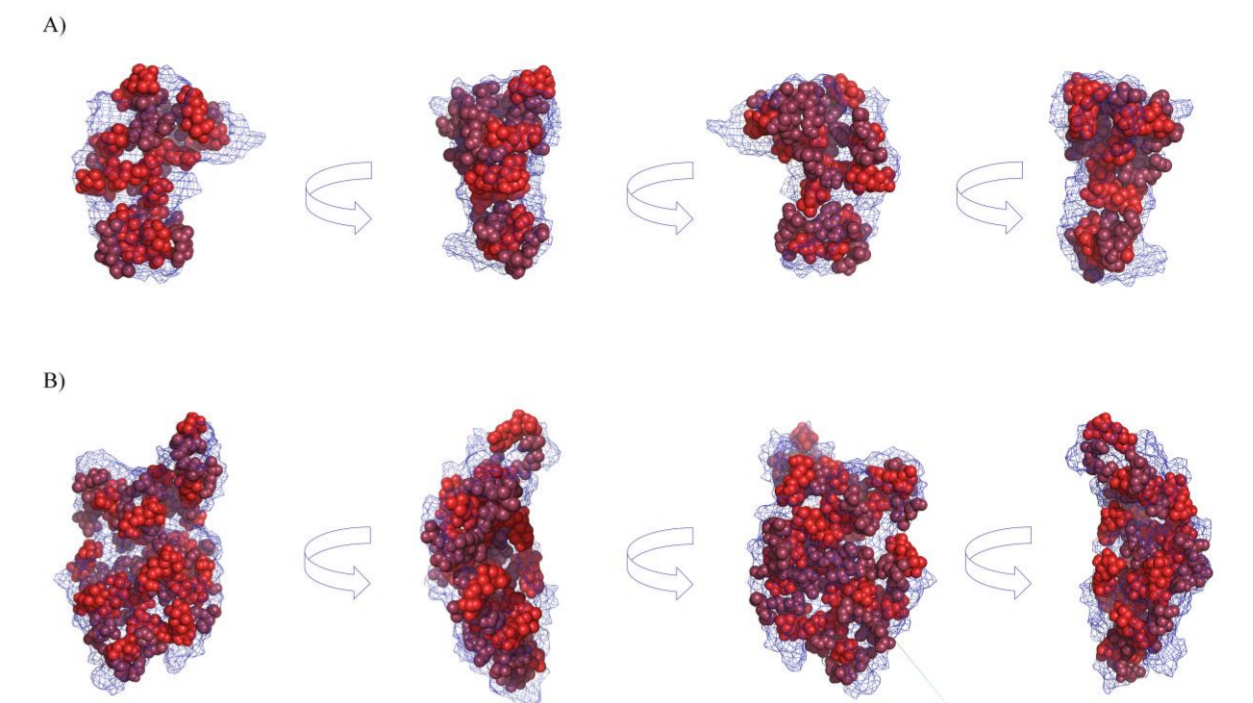


Figura 6. Representação da disposição na micela das unidades componentes da saponina QS-21. Os triterpenos (esferas vermelhas) e as Acilas (esferas marrons) são mais hidrofóbicos, enquanto os carboidratos (linhas azuis) são mais hidrofílicos. A) Micela de 10 moléculas; B) Micela de 20 moléculas.

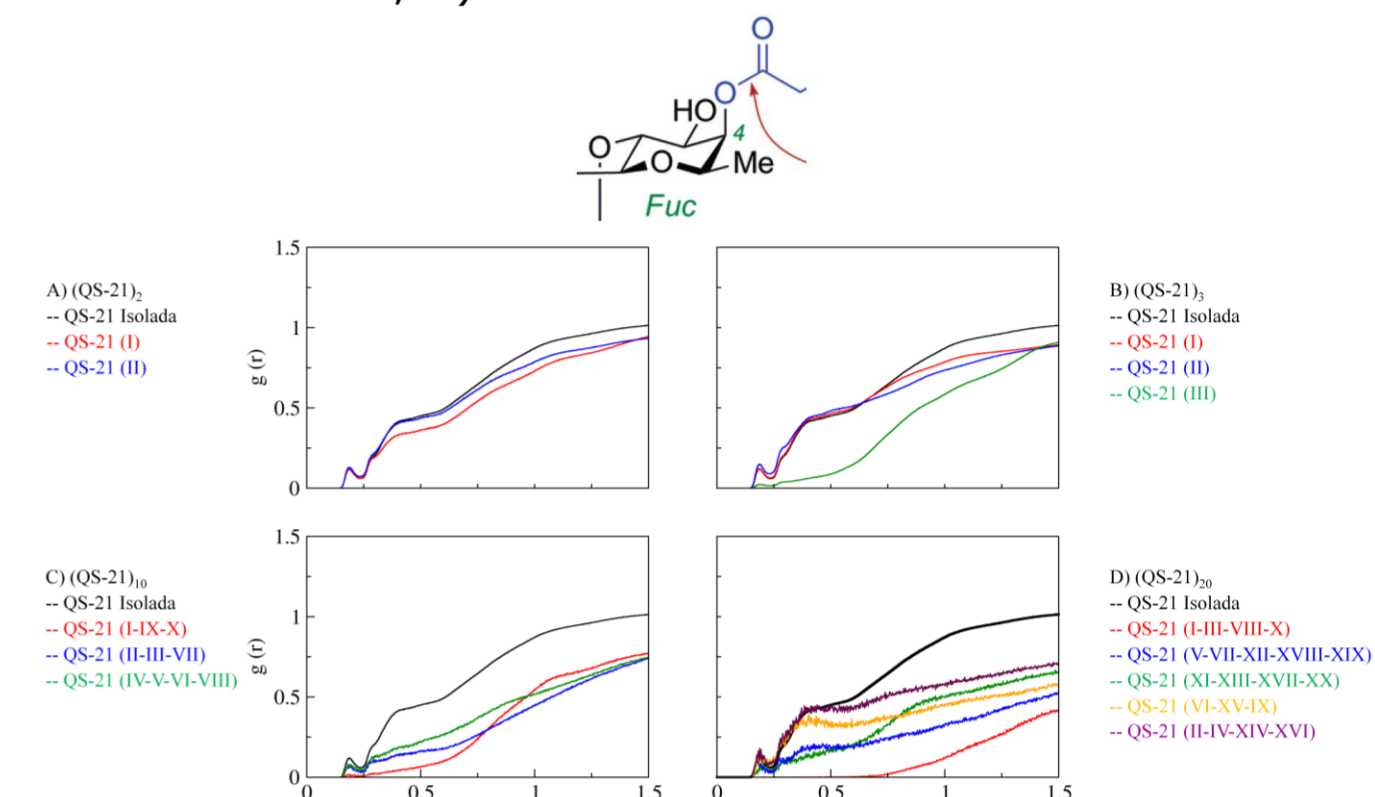


Figura 7. RDF da ligação éster entre o resíduo Fuc e cadeia acila. A) Simulação por DM de duas moléculas (QS-21)₂; B) Simulação por DM de três moléculas (QS-21)₃; C) Simulação por DM de 10 moléculas (QS-21)₁₀; D) Simulação por DM de 20 moléculas (QS-21)₂₀. Em todos os gráficos, uma comparação com a saponina isolada em solução foi realizada. Nos gráficos C e D, uma aproximação para as saponinas que apresentaram resultados similares foi realizada, de maneira que os algoritmos romanos entre parênteses correspondem a qual(is) saponina(s) estão representadas em cada uma das linhas. Os átomos em azul na estrutura 2D foram os utilizados no cálculo de RDF.

5. Conclusões

A partir dos dados obtidos, foi possível:

- caracterizar conformacionalmente a saponina QS-21
- observar a formação espontânea de micelas de tamanhos diferentes, sendo essa a primeira evidência atômica desse evento.
- Todas as ligações ésteres entre fucose e cadeia acila tiveram redução em algum grau da solvatação, concordando com dados experimentais [3] e confirmando a proteção dessas cadeias na forma de micela contra a degradação por hidrólise.
- Comparar as dimensões da micela formada por DM e compará-las com dados de SAXS [2], validando assim a metodologia empregada.

6. Agradecimentos

Agradecemos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), MCT, a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), MEC, Brasília, DF, Brazil e a Fundação de Apoio à Pesquisa do Rio Grande do Sul (FAPERGS). Pesquisa desenvolvida junto ao Centro Nacional de Supercomputação da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

7. Referências

- [1] Adams, M. et al.: *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 1939-1945.
- [2] Teixeira, C. V. et al.: The conformation of Quillaja Bark saponin in micelles. **2010**.
- [3] Cleland, J. L. et al.: *J. Pharm. Sci.* **1995**, 85, 22-28
- [4] Sant'anna et al.: *J. Mol. Struct. - Theochem* **1999**, 490, 167-180.
- [5] Verli, H.; Guimarães, J. A.: *Carbohydr. Res.* **2004**, 339, 281-290.
- [6] Becker, C. F. et al.: *Carbohydr. Res.* **2005**, 340, 1499-1507.
- [7] Pol-Fachin, L. et al.: *Carbohydr. Res.* **2009**, 344, 491-500.
- [8] Verli, H.; Guimarães, J. A.: *J. Mol. Graph. Model.* **2005**, 24, 203-212.
- [9] Becker, C. F. et al.: *J. Mol. Graph. Model.* **2007**, 26, 399.
- [10] Pol-Fachin, L. et al.: *Carbohydr. Res.* **2008**, 343, 1435-1445.
- [11] Fernandes, C.L. et al.: *Carbohydr. Res.* **2010**, 345, 663-671.
- [12] Hess et al.: *J. Chem. Theory Comput.* **2008**, 4, 435-447
- [13] van Gusteren et al.: The GROMOS96 Manual and User Guide. **1997**