

## Modelagem Molecular da Tromboxano-A Sintase 1

**Fábio Ferreira Lopes (IC), Magaly Girão Albuquerque (PQ) \*, Camilo Henrique da Silva Lima (PQ) \***

E-mails: fabiof.lops@gmail.com; \* magaly@iq.ufrj.br; \* camilolima@iq.ufrj.br

Departamento de Química Orgânica (DQO), Instituto de Química (IQ), Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ)  
Programa de Pós-Graduação em Química (PPGQu) – IQ/UFRJ

Palavras-Chave: Tromboxano Sintase 1, Prostaglandina H<sub>2</sub>, Modelagem Molecular, Docagem Molecular, *Docking*

### Introdução

A enzima tromboxano-A sintase 1 (TBXAS1) é uma hemoproteína (i.e., contém um grupo prostético heme), pertencente à família citocromo P450 (CYP450), encontra-se ligada à membrana do retículo endoplasmático e contém 533 aminoácidos (isoforma 1).<sup>1</sup> A TBXAS1 atua na conversão do substrato endoperóxido de prostaglandina H<sub>2</sub> (PGH<sub>2</sub>), proveniente do ácido araquidônico, em tromboxano A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>), que possui tempo de meia-vida de cerca de 30s em meio aquoso. TXA<sub>2</sub> é um potente indutor de agregação plaquetária, vasoconstrição e broncoconstrição, sendo relacionado a uma série de patologias, como trombose, asma e infecção por *Trypanosoma cruzi* (doença de Chagas).<sup>2,3</sup>

A estrutura 3D da TBXAS1 não foi elucidada experimentalmente, mas a partir de estudos de simulação por dinâmica molecular (DM) e espalhamento de raios-X de baixo ângulo (SAXS), foi possível identificar regiões flexíveis que impedem a cristalização da enzima.<sup>2</sup> Portanto, o objetivo deste trabalho é identificar as interações intermoleculares entre o PGH<sub>2</sub> e a TBXAS1 para o planejamento de novos inibidores mais específicos.

### Resultados & Discussão

A estrutura 3D da TBXAS1 foi construída no programa Modeller (<https://salilab.org/modeller/>), a partir da estrutura primária disponível no UniProt (<https://www.uniprot.org/>) (código: P24557) e as estruturas 3D de outras CYP450 depositadas no *Protein Data Bank* (PDB) (códigos: 1JPZ, 2IAG, 2IJ2, 2IJ3, 2IJ4, 3B6H, 3B98, 3B99, 3NXU e 5VCC).<sup>1</sup>

Visando a remoção de possíveis colisões estéricas no modelo construído, esta estrutura foi submetida à simulação por DM, em meio aquoso, por 50ns, no programa GROMACS (<http://www.gromacs.org/>). Realizou-se uma análise de população (*cluster*) das trajetórias da DM para selecionar uma estrutura representativa para o estudo de docagem molecular do substrato PGH<sub>2</sub> no sítio ativo da enzima.

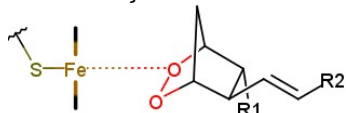
A estrutura 3D do substrato foi construída no programa Spartan'10 (Wavefunction, Inc.) e submetida à análise conformacional, usando o método semi-empírico RM1. A docagem foi realizada no programa AutoDock 4.2 (<http://autodock.scripps.edu/>), considerando uma caixa cúbica de 60x60x60 Å<sup>3</sup>, centralizada no átomo de Fe(heme), testando as funções de busca por algoritmos genético (GA, *Genetic Algorithm*) e Lamarckiano (LGA, *Lamarckian Genetic Algorithm*).

Os resíduos Glu344, Ile345 e Ile346 foram considerados flexíveis devido à proximidade com o átomo de Fe, o que poderia impedir a aproximação do ligante. Após 10 corridas de docagem para cada função de busca, duas poses (soluções) de menor energia de ligação, por função de busca, foram selecionadas para análise das distâncias O(9)...Fe(heme) e das interações via ligação hidrogênio.

Apesar da diferença de energia entre as poses obtidas por docagem ser menor do que 0,1 kcal/mol, as orientações no sítio ativo apresentaram valores de distância entre os átomos de O(9) e Fe(heme) que variaram de 4,0 a 5,7Å (Tabela 1).

Na continuação desse trabalho, será avaliada a persistência dessa distância e das interações via ligação hidrogênio, que possam auxiliar na manutenção do PGH<sub>2</sub> dentro do sítio ativo da enzima, empregando simulação por DM em meio aquoso.

**Tabela 1.** Energias de interação (E) entre PGH<sub>2</sub> e TBXAS1 e as respectivas distâncias (d) entre os átomos de O(9) e Fe(heme) nas poses de menor obtidas usando as funções de busca GA e LGA.



Função de busca	Pose	E (kcal/mol)	d (Å)
GA	1 <sup>a</sup>	-1,93	5,6
GA	2 <sup>a</sup>	-1,92	5,0
LGA	1 <sup>a</sup>	-2,61	5,7
LGA	2 <sup>a</sup>	-2,55	4,0

### Conclusões & Perspectivas

Neste trabalho, construímos uma estrutura 3D da enzima TBXAS1, que foi submetida à simulação por DM, em meio aquoso, para remover possíveis colisões estéricas. A análise de população (cluster) das trajetórias obtidas por DM possibilitou a seleção de uma estrutura 3D representativa para o estudo de docagem molecular do substrato PGH<sub>2</sub> no sítio ativo da enzima. As poses obtidas apresentam diferentes orientações dentro do sítio ativo, onde a distância O(9)...Fe(heme) variou de 4,0 a 5,7Å, indicando a necessidade de estudos de DM para avaliar a persistência dessa distância, além das interações por ligação hidrogênio.

### Agradecimentos

UFRJ – CNPq – CAPES – FAPERJ

<sup>1</sup> Yang, H.-C. *et al.* (2017) *J. Phys. Chem. B*, 121, 11229.

<sup>2</sup> Sathler, P. C. *et al.* (2014) *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, 29, 527.

<sup>3</sup> Paragi-Vedanthi, P. & Doble, M. (2010) *BMC Bioinformatics*, 11, 51.