

# LEUCOTRIENO A4: MODELADO IN SILICO Y DOCKING MOLECULAR SOBRE LA LEUCOTRIENO A4 HIDROLASA

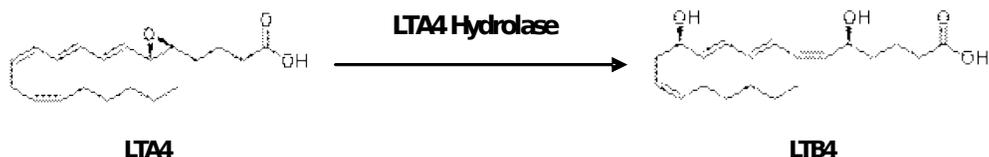
Paula B. Paz, Esteban G. Vega-Hissi, Mario R. Estrada, Juan C. Garro Martinez

Area de Química Física, Dpto. de Química, Universidad Nacional de San Luis-CONICET.  
Chacabuco 917, San Luis, 5700, Argentina.

E-mail: paulabpaz@hotmail.com

## INTRODUCCION

Los Leocotrienos (LTs) (“leuko” de leucocitos, y “trienos” que tiene tres enlaces dobles conjugados) son unos de los compuestos más importantes de la familia de hormonas llamada eicosanoides. Los LTs son metabolitos derivados del ácido araquidónico, biosintetizados a través de la ruta de las lipoxigenasas [1-3]. El Leucotrieno A4 (LTA4) es un epóxido alílico inestable que es convertido en LTB4, Figura 1, por hidratación estereoselectiva a partir de la LTA4 hidrolasa (LTA4H) [4], una metaloenzima bifuncional de zinc [5]. El producto de esta reacción enzimática, el Leucotrieno B4 (LTB4), es un potente mediador pro-inflamatorio que está implicado en la patogénesis de varias enfermedades como la psoriasis, la enfermedad inflamatoria intestinal, la artritis reumatoide, el asma, la enfermedad obstructiva pulmonar crónica y la aterosclerosis [6,7].



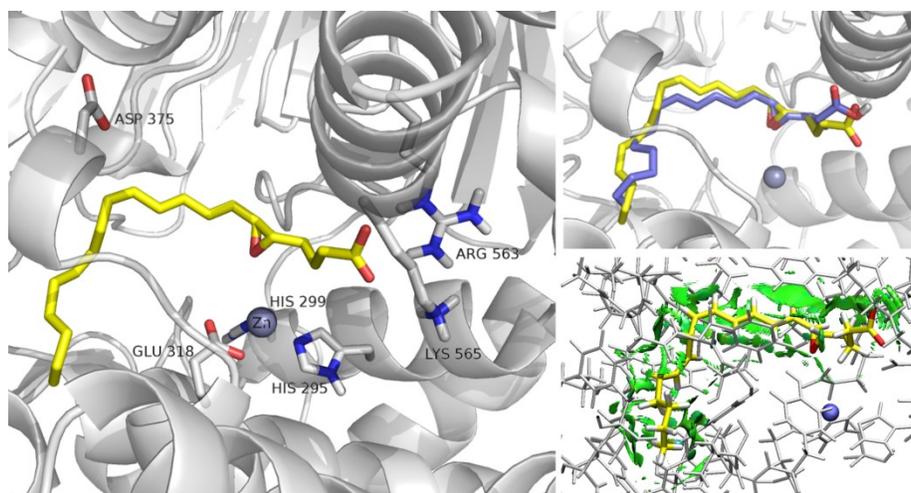
En este trabajo presentamos un estudio de docking molecular de LTA4 con la enzima LTA4H realizado con el software AutoDock Vina [8]. La estructura de LTA4H fue extraída del banco de datos de proteínas[9] (PDB code: 3CHO [10]). Las estructuras moleculares del sustrato LTA4 y el producto LTB4 empleadas en el docking fueron obtenidas a través de cálculos mecanocuánticos empleando la Teoría del Funcional de la Densidad (DFT) a nivel B3LYP/6-31+G(d) tanto en fase gaseosa y condensada. Todos los cálculos cuánticos fueron realizados con Gaussian 03 [11].

## RESULTADOS

La estructura molecular de LTB4 fue analizada separando la molécula en tres fragmentos según sus características químicas; una cadena hidrofóbica, un grupo trieno, y un grupo polar ácido. Este análisis se llevó a cabo a través de curvas y superficies de energía potencial (CEP y SEP) y optimización posterior de las geometrías puntuales. Los

resultados se utilizaron para construir la molécula completa de LTB4 y de esta manera obtener una mejor estructura optimizada. La conformación más estable del LTB4 muestra una estructura alargada con una interacción intramolecular en el fragmento polar analizada a través del análisis de los orbitales naturales de enlace (NBO). A su vez, cuatro confómeros estructurales de LTA4 fueron modelados a partir de las conformaciones de mínima energía resultantes del LTB4. Además, las especies desprotonada de ambos leucotrienos fueron analizadas de acuerdo con los valores de pKa encontrados en la literatura.

Finalmente se propuso un modelo de unión de la enzima LTA4 hidrolasa con LTA4 mediante docking molecular. En la Figura 2 se muestra las especies protonadas y desprotonadas de LTA4 en el sitio activo de la enzima. La figura muestra también las interacciones intermoleculares que existen entre el sustrato y la enzima; el grupo carboxilato interactúa con Arg563 y está próximo a Lys565, el átomo de oxígeno del grupo epóxido es posicionado coordinando al catión  $Zn^{+2}$  formando un complejo cuadrado piramidal con His 295, His 299 y Glu 318, la cadena de LTA4 se encuentra perfectamente ubicada en un paquete hidrofóbico y Asp375 se orienta hacia el grupo trieno. Estos resultados están en excelente acuerdo con los datos experimentales que se pueden encontrar en la literatura [12].



## CONCLUSIONES

Los cálculos DFT nos permitieron obtener las estructuras estables tanto para el sustrato como para el producto de la enzima LTA4H. Los resultados del docking molecular proporcionan un modelo de interacción de LTA4H con LTA4 en excelente acuerdo con los datos experimentales: el sustrato se une al sitio activo de la enzima de modo que sus grupos funcionales quedan organizados de acuerdo con el mecanismo de reacción propuesto por varios autores. Ambas especies protonada y desprotonada se unen al mismo sitio en orientación adecuada de sus grupos clave para la reacción enzimática. El sustrato se mantiene en el sitio activo por múltiples interacciones atractivas débiles y un enlace de hidrógeno con Arg563.

Este estudio aporta importante información para dilucidar: a) la similitud estructural entre LTA4 y su precursor LTB4, b) los cambios conformacionales de LTA4 en fase gaseosa, fase condensada y cuando está unido a la enzima, c) el sitio activo de LTA4H cuando está unido a LTA4 para la comparación del sitio de interacción con los inhibidores y por lo tanto obtener información importante para el desarrollo en el futuro de nuevos inhibidores de la síntesis de LTB4.

## Referencias

1. Borgeat P., Samuelsson B. (1979). *J Biol Chem*; 254:2643–2646.
2. Baneres J.L., Martin A., Hullot P., Girard J.P., Rossi J.C., Parello J. (2003). *J Mol Biol*; 329:801–814.
3. Griffiths R.J., Pettipher E.R., Koch K., Farrell C.A., Breslow R., Conklyn M.J., Smith M.A., Hackman B.C., Wimberly D. J., Milici A.J., Scampoli D.N., Cheng J. B., Pillar J.S., Pazoles C.J., Doherty N.S., et al. (1995) *Proc Natl Acad Sci USA*; 92:517-521.
4. Haeggstrom J.Z. (2004). *J Biol Chem*; 279: 50639-50642.
5. Barnes, P. J. (2001) Future advances in COPD therapy *Respiration*; 68:441-450.
6. Steele V.E., Holmes C.A., Hawk E.T., Kopelovich L., Lubet R.A., Crowell J.A., Sigman C.C., Kelloff G.J. (1999). *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*; 8:467–483.
7. Trott O., Olson A.J., (2010) AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading. *J Comput Chem*; 31:455-461.
8. Bernstein F.C., Koetzle T.F, Williams G.J.B., Meyer E.F. Jr., Brice M.D., J.R. Rodgers J.R., Kennard O., Shimanouchi T., Tasumi M. (1977) The Protein Data Bank: a computer-based archival file for macromolecular structures. *J Mol Biol*; 112:535-542.
9. Brasseur R. and Deleers M. (1984). *Proc Natl Acad Sci USA*; 81:3370-3374.
10. Frisch M.J., Trucks G.W., Schlegel H.B., Scuseria G.E., Robb M.A., Cheeseman J.R., Montgomery J.A.Jr. et al. (2003) Gaussian 03, Revision B.05, Gaussian Inc., Pittsburgh, PA.
11. Thunnissen M.M.G.M., Nordlund P., Haeggstrom J.Z. (2001). *Nat Struct Biol*; 8:131-135.