



Estudo *in silico* do efeito da mutação R76H na enzima citocromo P450 2E1 (CYP2E1) sobre a interação com os ligantes tranilcipromina, 4-pentilpirazol e quinolina

Jardim, Fernando.^{1,3}; Oliveira, Ricardo F.^{3,4}; DE AMORIM, Hermes L.N.^{2,3}

¹Aluno do curso de Farmácia – Universidade FEEVALE;

²Programa de Mestrado Profissional em Genética e Toxicologia Aplicada – ULBRA;

³Laboratório de Bioinformática Estrutural (LaBiE) - ULBRA;

⁴Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular Aplicada a Saúde - ULBRA

As enzimas pertencentes ao sistema citocromo P450 (CYPs) são as principais responsáveis pelos principais processos de metabolismo de fármacos. Membro da superfamília citocromo P450, a enzima citocromo P450 2E1 é responsável pela metabolização de compostos como o etanol, acetaminofeno, benzeno e clorzoxasona. Recentemente foi descoberto um polimorfismo nesta enzima, caracterizado por uma substituição no aminoácido R76H. Esta mutação é responsável por uma atividade enzimática reduzida para determinados substratos. Logo, a compreensão das interações e mecanismos moleculares envolvendo as isoformas selvagem e mutante para a CYP2E1 torna-se imprescindível para o planejamento e desenvolvimento de fármacos, visando otimizar a especificidade, seletividade e as etapas que envolvem os processos ADMET. Nesse sentido, o presente trabalho visou investigar as interações moleculares entre as isoformas selvagem e mutante da CYP2E1 ante os substratos: tranilcipromina (tranilcpr), 4-pentilpirazol (4pentprz) e quinolina (quinol). As estruturas correspondentes aos ligantes foram construídas com os programas ACD/ChemSketch e ARGUSLAB. O modelo da forma selvagem (wt) da CYP2E1 foi obtido do Protein Data Bank (PDB), código 3T3Z. A forma mutante R76H foi construída através do emprego de modelagem por homologia via o servidor SWISS-MODEL. Simulações por dinâmica molecular (DM) foram realizadas com emprego do campo de força AMBER incorporado no pacote GROMACS 4.6.1. Para a docagem molecular usou-se o programa AutoDock 4.2 através da interface gráfica AutoDockTools. A técnica de *ensemble docking* foi implementada internamente através de scripts devolvidos no laboratório. Filtros foram usados para selecionar somente as configurações espaciais dos ligantes que estivessem em concordância com o mecanismo

catalítico conhecido. Cada ligante foi submetido a dez docagens independentes sobre conformações das formas selvagem e mutante da CYP2E1 extraídas da etapa de produção das simulações por DM. Após o *ensemble docking*, a análise das interações foi realizada com o programa LigPlot. Para a forma selvagem (wtCYP2E1), foram obtidas energias médias de ligação iguais a $-5,29 \pm 0,25$ kcal/mol, $-5,45 \pm 0,23$ kcal/mol e $-5,46 \pm 0,22$ kcal/mol para os ligantes tranilcpr, 4-pentprz e quinol, respectivamente. O número de poses selecionadas por conformação da DM foi de $3,9 \pm 3,9$, $2,8 \pm 3,6$ e $4,9 \pm 4,4$. Para a forma mutante (CYP2E1-R76H), foram obtidas energias médias de ligação iguais a, respectivamente, $-5,29 \pm 0,31$ kcal/mol, $-5,6 \pm 0,25$ kcal/mol e $-5,51 \pm 0,18$ kcal/mol. O número de poses selecionadas foi de $1,8 \pm 3,1$, $3,0 \pm 3,7$ e $4,1 \pm 4,3$. Comparando os resultados para as duas variantes, observou-se uma relativa diminuição das conformações produtivas selecionadas para o inibidor tranilcipromina, o que está de acordo com o esperado em termos da atividade reduzida da variante R76H para este tipo de substrato. Neste caso, pode-se sugerir que o modelo de interação utilizado pela CYP2E1 é do tipo seleção conformacional, sendo que um menor número de conformações produtivas leva a um menor taxa de formação de produto.

Palavras-chave: Citocromo P450 2E1; Ensemble Docking; CYP2E1-R76H.