

# Avaliação Teórica da Multiplicidade de Spin e do Estado de Protonação da Água do Sítio Ativo da Urease de *Klebsiella aerogenes*

Saraí Soares de Souza<sup>1</sup>(PG); Anivaldo Xavier de Souza<sup>1,2</sup>(PQ); Carlos Mauricio R. Sant'Anna<sup>1</sup>(PQ).  
saraí@ufrjr.br ; anivaldo@ufrjr.br

1- Departamento de Química, ICE, UFRRJ; 2- Colégio Técnico da UFRRJ

Palavras Chave: Urease, PM6, semi-empírico

## Introdução

A urease (uréia amidoidrolase; EC 3.5.1.5) é uma enzima que catalisa a reação de hidrólise da uréia para formar amônia e carbamato, o qual se decompõe espontaneamente, produzindo uma segunda molécula de amônia e dióxido de carbono<sup>1</sup>. A eficiência dos fertilizantes nitrogenados, como a uréia, é diminuída pela atividade da urease presente no solo<sup>2</sup>. Com a hidrólise da uréia são liberados para a atmosfera gases de efeito estufa; o desenvolvimento de inibidores desta enzima tanto pode aumentar a eficiência dos fertilizantes como reduzir a poluição ambiental. A urease contém dois íons Ni<sup>2+</sup> no seu sítio ativo em um ambiente de coordenação bastante complexo, o que dificulta a definição exata da multiplicidade de spin da enzima; além disso, nas estruturas cristalográficas há um átomo de oxigênio localizado entre os íons Ni<sup>2+</sup>, que pode tanto ser um ânion HO<sup>-</sup> quanto uma molécula de água.

Nesse trabalho avaliamos a multiplicidade de spin da urease e o estado de protonação do oxigênio localizado entre os íons Ni<sup>2+</sup>. Foi utilizada a estrutura cristalográfica 1FWJ<sup>3</sup> depositada no *Protein Data Bank* (PDB). Como a estrutura tem milhares de átomos, foram escolhidos os aminoácidos com pelo menos um átomo em uma esfera de 6,0 Å de raio em torno dos íons Ni<sup>2+</sup>. Além de 19 aminoácidos, foram incluídos 4 moléculas de água, os íons Ni<sup>2+</sup> e um resíduo modificado de *N*-carboxi-lisina. Foram realizados cálculos com a enzima no estado fundamental e no estado triplete, contendo tanto água entre os íons Ni<sup>2+</sup> quanto um ânion HO<sup>-</sup>.

Os cálculos foram executados com o método semi-empírico PM6<sup>4</sup> (programa Mopac2009) e foi usado o método RHF nos estados fundamentais e UHF nos estados triplete.

## Resultados e Discussão

Para avaliar os resultados foram escolhidos alguns átomos próximos dos íons níquel. As distâncias entre esses átomos e íons Ni<sup>2+</sup> são mostradas na tabela 1. Quando comparamos as distâncias no estado fundamental com a água (d<sub>2</sub>) e com o ânion HO<sup>-</sup> (d<sub>3</sub>) com as distâncias obtidas experimentalmente (d<sub>1</sub>), pode ser observado que as que mais se aproximam dos dados experimentais, são as otimizadas com o íon HO<sup>-</sup>. Quando comparamos as distâncias no estado triplete com a água (d<sub>4</sub>) e com o ânion HO<sup>-</sup> (d<sub>5</sub>) com as distâncias obtidas experimentalmente (d<sub>1</sub>), pode ser observado

que as que mais se aproximam dos resultados experimentais, são as otimizadas com o ânion HO<sup>-</sup> no estado triplete.

Entre os dois sistemas com ânion HO<sup>-</sup>, a representação das distâncias é um pouco melhor para o sistema no estado triplete.

**Tabela 1.** Distâncias iniciais e otimizadas entre alguns átomos e os cátions níquel.

Ligação	d <sub>1</sub> (Å) Exp	d <sub>2</sub> (Å) RHF H <sub>2</sub> O	d <sub>3</sub> (Å) RHF HO <sup>-</sup>	d <sub>4</sub> (Å) triplete UHF/H <sub>2</sub> O	d <sub>5</sub> (Å) triplete UHF/HO <sup>-</sup>
Ni160-O112	2,076	2,783	<b>1,946</b>	<b>2,043</b>	1,975
Ni160-O113	3,343	4,854	<b>3,452</b>	3,631	<b>3,467</b>
Ni160-N139	2,038	1,872	<b>1,892</b>	<b>1,959</b>	1,887
Ni160-N155	2,274	1,863	<b>1,891</b>	<b>1,966</b>	1,889
Ni160-O163	2,148	1,900	1,899	<b>2,037</b>	1,888
Ni160-O164	2,098	<b>1,933</b>	2,397	<b>2,113</b>	2,304
Ni161-N82	2,254	1,881	<b>2,110</b>	1,900	<b>1,955</b>
Ni161-N88	2,151	1,870	<b>1,888</b>	1,897	<b>1,957</b>
Ni161-O112	3,514	3,095	<b>3,453</b>	3,287	<b>3,563</b>
Ni161-O113	2,086	1,872	<b>1,908</b>	1,889	<b>2,036</b>
Ni161-O158	2,179	1,848	<b>1,879</b>	1,859	<b>2,022</b>
Ni161-O159	3,429	3,052	<b>3,115</b>	3,065	<b>3,239</b>
Ni161-O163	1,976	3,370	<b>2,028</b>	2,426	<b>2,095</b>
Ni161-O164	3,504	4,301	<b>3,744</b>	4,015	<b>3,717</b>
Ni161-Ni160	3,591	4,885	<b>3,592</b>	4,001	<b>3,650</b>

## Conclusões

Os resultados indicam que átomo de oxigênio localizado entre os íons Ni<sup>2+</sup> da urease é um ânion HO<sup>-</sup>; além disso, o sistema é melhor representado pelo estado triplete. A definição destas características estruturais serão úteis para estudos envolvendo a interação com moléculas desenvolvidas por nosso grupo de síntese, candidatas a inibidores da enzima.

## Agradecimentos

FAPERJ, CAPES e CNPq

<sup>1</sup> Pearson, M. A.; Michel, L. O.; Hausinger, R. P.; Karplus, P. A. *Biochemistry*, 36, 8164-8172. **1997**.

<sup>2</sup> Benini, S.; Rypniewski, W. R.; Wilson, K. S.; Miletti, S.; Ciurli, S.; Mangani, S. *Structure*, v-7, N-2, 205-216. **1999**.

<sup>3</sup> Jabri, E., Carr, M.B., Hausinger, R.P., Karplus, P.A. *Science* 268: 998. **1995**.

<sup>4</sup> Stewart, J. J. P. *J. Mol. Model.* 13, 1173-1213. **2007**.