

ESTUDOS COMPUTACIONAIS ENTRE ANÁLOGOS DO GLIFOSATO E AS ENZIMAS EPSP SINTASE NATIVA E MUTANTE Gly96Ala

Melissa S. Caetano¹ (IC), Gustavo H. P. Luz¹ (IC), Teodorico C. Ramalho^{1*} (PQ), Elaine F. F. da Cunha¹ (PQ)

¹Universidade Federal de Lavras, Departamento de Química, CEP 37200-000 Lavras, MG.

*teo@ufla.br

Palavras Chave: glifosato, EPSP sintase, dinâmica molecular.

Introdução

O glifosato é o componente ativo do popular herbicida *Round-up*[®], responsável pelo controle de ervas daninhas¹. Ele é um inibidor não seletivo e competitivo de PEP (fosfoenolpiruvato) na reação da 5-enolpiruvil shikimato-3-fosfato sintase (EPSP sintase).

Uma das primeiras enzimas caracterizadas insensíveis ao glifosato foi a EPSP sintase mutante Gly96Ala da *Klebsiella pneumoniae*².

A compreensão das interações específicas entre ligantes e os seus receptores auxilia no conhecimento das razões moleculares da atividade dos ligantes. Devido a importância do desenvolvimento de novos herbicidas, este trabalho tem por objetivo o estudo do modo de interação de análogos do glifosato¹ e as enzimas EPSP sintase da *E. coli*, nativa e mutante, através das técnicas de ancoramento molecular e dinâmica molecular para que possamos propor herbicidas mais ativos.

Metodologia

A EPSP sintase incluindo águas de cristalização, S3P e o glifosato, foram obtidos do *PDB* (1G6S) e devidamente minimizados. A posição e orientação inicial usada para o ancoramento dos três derivados do glifosato (Figura 1) foram obtidas pela modificação do ligante extraído do *PDB*. Em seguida, cálculos de dinâmica molecular foram executados utilizando o programa *GROMACS*³.

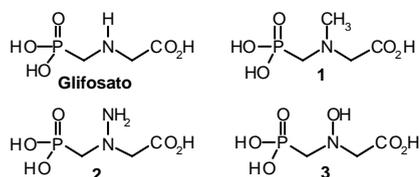


Figura 1. Estrutura do glifosato e seus análogos.

O resíduo de aminoácido Gly-96 foi substituído pelo resíduo de alanina na enzima nativa para formar a enzima mutante. O mesmo procedimento de minimização e adição do solvente da enzima nativa foi executado na mutante. Os oito complexos, obtidos da dinâmica foram, então, transferidos para o programa *MDV*⁴, onde os ligantes foram retirados do sítio ativo da enzima e novamente ancorados.

Resultados e Discussão

A Tabela 1 apresenta os valores de energia intermolecular entre o glifosato e seus análogos e a EPSP sintase nativa e mutante. Pôde-se observar um decréscimo na energia de interação entre todos os complexos inibidores – Gly96Ala com relação aos complexos inibidores-EPSP sintase nativa. A maior diferença de energia de interação foi encontrada para o glifosato, corroborando com os dados de resistência divulgados por Eschenburg *et al.*, onde a concentração mínima do glifosato capaz de inibir 50% da atividade enzimática (IC₅₀) da EPSP sintase da *Escherichia coli* nativa é 0,01 mM e da mutante Gly96Ala >10mM⁵. A seqüência de valores de energia de interação intermolecular ligante-proteína, foi mais estável para o glifosato, seguido do composto **2**, **3** e **1**, corroborando com a tendência dos valores da constante de inibição.

Tabela 1. Valores de energia intermolecular entre ligante e as enzimas EPSP sintase nativa e mutante.

Compostos	K _i (mM)	Energia Intermolecular Kcal/mol	
		Enzima nativa	Enzima mutante
Glifosato	0,16	-115,46	-100,88
1	78,0	-102,67	-96,43
2	0,61	-109,87	-97,05
3	2,2	-108,70	-98,04

Conclusões

Os nossos cálculos apresentaram boa concordância com os valores experimentais. O fato do glifosato ser melhor inibidor da EPSP sintase nativa, quando comparado aos seus análogos, deve-se à flexibilidade conformacional, que o leva a interagir melhor com o sítio ativo.

Agradecimentos

DQI-UFLA e CENAPAD-SP.

¹Sikorski, J.A.; Gruys, K. *Acc. Chem. Res.* **1997**, 30, 2.

²Eschenburg, S.; Healy, M.L.; Priestman, M.A.; Schonbrunn, G.H.; Lushington, E. *Planta* **2002**, 216, 129.

³ Van der Spoel, D.; Lindahl, E.; Hess, B.; Groenhof, G.; Mark, A. E.; Berendsen, H. J. C. GROMACS: Fast, Flexible and Free. *J. Comp. Chem.*, **2005**, *26*, 1701.

⁴ Thomsen, R.; Christensen, M. H. *J. Med. Chem.*, **2006**, *49*, 3315.