

## Avaliação Teórica do Potencial Catalítico do Asp334 no Mecanismo de Formação do EPSP Catalisado pela EPSP Sintase de Arroz

Anivaldo Xavier de Souza<sup>1</sup> (PG)\* e Carlos Mauricio R. Sant'Anna<sup>2</sup> (PQ)  
Departamento de Química, Instituto de Ciências Exatas, UFRRJ

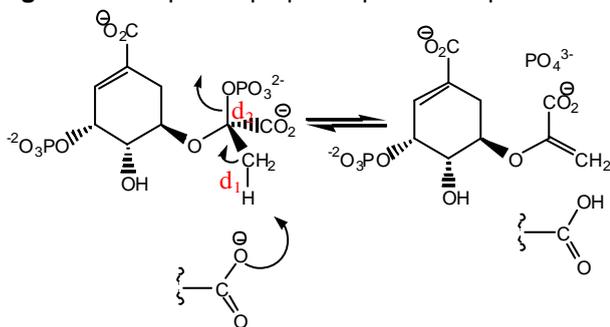
<sup>1</sup>anivaldo@ufrj.br, <sup>2</sup>santanna@ufrj.br

Palavras-chave: EPSP sintase, sítio ativo, método semi-empírico.

### Introdução

A enzima 5-enolpiruvil-chiquimato 3-fosfato (EPSP) sintase catalisa a reação entre o fosfoenolpiruvato (PEP) e o chiquimato-3-fosfato (S3P), formando os produtos EPSP e fosfato inorgânico. Esta reação é essencial para a biossíntese de compostos aromáticos em algas, plantas superiores, bactérias e fungos<sup>1</sup>. Na etapa final do mecanismo, é proposto que um resíduo básico do sítio ativo enzimático abstrai um próton ligado ao carbono C3 do fragmento PEP do intermediário da reação, levando ao produto (fig. 1). Nosso objetivo é avaliar, por meio da determinação da superfície de energia potencial da reação, um resíduo do sítio ativo da EPSP sintase do arroz, Asp334, como resíduo básico, determinando sua possível participação na formação da EPSP.

**Figura 1.** Esquema proposto para a etapa final do

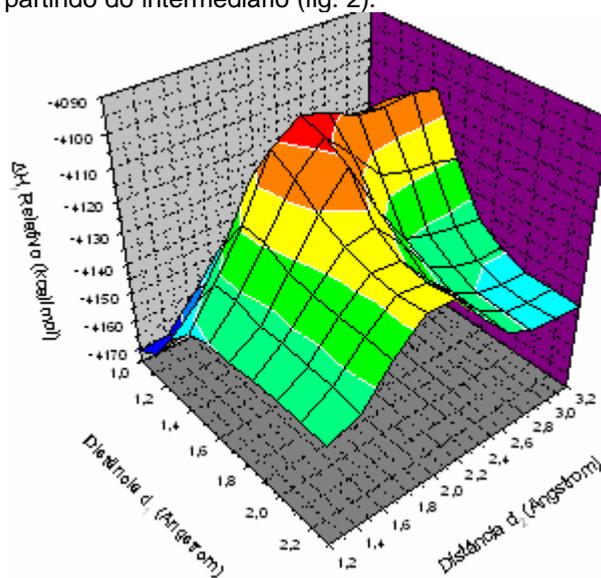


mecanismo catalítico da formação do EPSP.

### Resultados e Discussão

Usamos um modelo de homologia da enzima, obtido a partir da seqüência de aminoácidos da EPSP sintase do arroz e dos dados cristalográficos da EPSP sintase depositada no PDB com o código 1Q36<sup>2</sup>. Partindo do intermediário da reação, os cálculos teóricos foram executados utilizando o método semiempírico PM3<sup>3</sup> com o programa Mopac 2002<sup>4</sup>. Para incluir efeitos da constante dielétrica da água no mecanismo, utilizamos o método COSMO<sup>5</sup>. A superfície de energia da reação foi construída através da variação sistemática das coordenadas  $d_1$  e  $d_2$ . A coordenada  $d_1$  está relacionada com o afastamento do H do C3 e conseqüente aproximação deste de um dos átomos de O do grupo carboxilato de Asp334. A coordenada  $d_2$  é a distância entre o grupo  $\text{PO}_4^{3-}$  e o átomo C2. A superfície foi construída

com um total de 50 pontos. Os resultados obtidos mostram a formação do éter vinílico e permitiram definir o caminho de menor energia para esta etapa, proposta para o mecanismo de formação da EPSP partindo do intermediário (fig. 2).



**Figura 2.** Superfície de energia potencial em função das coordenadas de reação.

Observa-se na superfície que o caminho de menor energia não é concertado, ou seja, ocorre primeiro a saída do H do C3, formando um carbânion, seguida da saída do  $\text{PO}_4^{3-}$  e formação do éter vinílico.

### Conclusões

Os resultados obtidos mostram que o resíduo Asp334 pode atuar como um catalisador básico antes da liberação do fosfato e sugerem que esta é uma possível rota do mecanismo de formação da EPSP partindo do intermediário da reação. Outros aminoácidos que podem atuar como possíveis catalisadores básicos estão sendo avaliados.

### Agradecimentos

Faperj, CNPq

<sup>1</sup> Stauffer, M E., Young, John K., Evans, J. N. S.; *Biochemistry* 2001,

4, 3951.

<sup>2</sup> Eschenburg, S. et al.; *J. Biol. Chem.* 2003, 278, 49215

<sup>3</sup> Stewart, J. J. P.; *J. Comp. Chem.* 1989, 10, 209.

<sup>4</sup> Fujitsu Co.

*Sociedade Brasileira de Química ( SBQ)*

<sup>5</sup> Klant, A., Schüümann, G., *J. Chem. Soc. Perkin Transactions*  
1993,  
2, 799.