

Estudo teórico do mecanismo de reação da EPSP sintase: projeto racional de novos herbicidas

Melissa Soares Caetano (PG)*, Teodorico de Castro Ramalho (PQ), Elaine Fontes Ferreira da Cunha (PQ). *melzinhaquimica@gmail.com

Departamento de Química, Universidade Federal de Lavras, Bloco A, 37200-000 Lavras, MG.

Palavras Chave: glifosato, EPSP sintase, mecanismo de reação.

Introdução

Determinar os requisitos estruturais e energéticos que governam a ativação da EPSP sintase, alvo do herbicida *Round-up*[®], é um dos primeiros passos na direção da proposta de herbicidas mais potentes e seletivos¹.

Neste trabalho, pretende-se elucidar o primeiro (Figura 1) e segundo (Figura 2) passos do mecanismo da reação da EPSP sintase, através de cálculos quânticos no intuito de projetar novos inibidores.

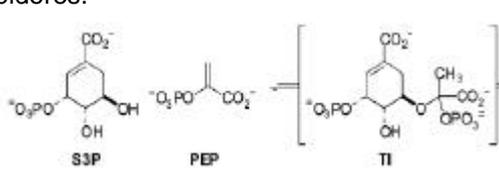


Figura 1. Primeiro passo do mecanismo de reação, formação do intermediário tetraédrico.

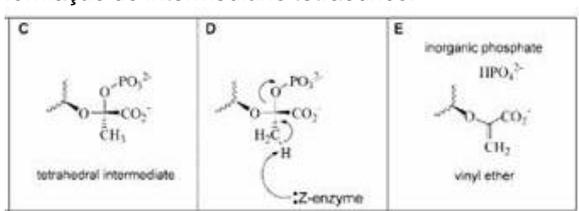


Figura 2. Segundo passo do mecanismo de reação da EPSP sintase.

Metodologia

A EPSP sintase incluindo águas de cristalização, S3P e o glifosato, foram obtidos do PDB (1G6S). A estrutura do PEP foi construída a partir da estrutura cristalográfica do glifosato. O sítio ativo da enzima foi recortado em forma de esfera com um raio de 5Å de distância do PEP e S3P.

Os cinco estados de transição propostos, de acordo com a literatura, para o mecanismo da primeira etapa da reação, obtidos dos cálculos semi-empíricos AM1, foram utilizados como ponto de partida para os cálculos *ab initio* em nível b3lyp/6-31g. Depois de cada otimização, um cálculo de constante de força foi realizado no intuito de verificar se as estruturas otimizadas eram mínimos locais ou estruturas de transição. Os cálculos foram executados com os programas Spartan Pro e Gaussian98.

Resultados e Discussão

Mizyed e colaboradores sugeram que o resíduo Glu-341 seria o doador do próton para a formação do intermediário proveniente de S3P e PEP e o resíduo Lys-22 serviria como acceptor do próton proveniente da hidroxila do S3P no primeiro passo da reação². Os nossos dados corroboram a proposta do mecanismo de Mizyed² (Tabela 1).

Tabela 1. Diferença de energia entre reagentes e estados de transição para as propostas mecanísticas da primeira etapa da reação.

Propostas	Doador/Aceptor	ΔG^\ddagger (kcal.mol ⁻¹)
I	Asp313/ Lys22	-628.69
II	Glu341/Lys22	-632.67
III	Glu341	-611.64
IV	Glu341/Lys83	-625.35

Para segunda etapa do mecanismo de reação, de acordo com os nossos dados, provavelmente, o Asp313 será o resíduo de aminoácido responsável pelo ataque ao intermediário tetraédrico, pois exibiu a menor energia de ativação. (Tabela 2)

Tabela 2. Diferença de energia entre reagentes e estados de transição para as propostas da segunda etapa da reação.

Propostas	:Z-enzyme	ΔG^\ddagger (kcal.mol ⁻¹)
I	Asp313	-841.91
II	Glu341	-839.47

Conclusões

De acordo com os dados apresentados aqui, o perfil energético para a síntese do EPSP foi determinado. O resíduo Glu-341 provavelmente atua como doador e o resíduo Lys-22 atua como acceptor do próton na primeira etapa da reação. O resíduo Asp313, provavelmente atua como resíduo de aminoácido acceptor do próton na segunda etapa da reação da EPSP sintase.

Agradecimentos

DQI-UFLA; CENAPAD; FAPEMIG e CNPq

[1] SIKORSKI, J.A.; GRUYS, K. *Acc. Chem. Res.* 30, 2-8, 1997.

[2] MIZYED, S.; WRIGHT, J.E.I.; BYEZYNSKI, B.; BERTI, P.J. *Biochemistry*, 42, 6986-6995, 2003.