

Participação dos Resíduos Lys432 e do Glu362 na Etapa de Eliminação do Mecanismo de Formação da EPSP Catalisada pela EPSPS de Arroz

Anivaldo Xavier de Souza^{1,2}(PQ)*, Carlos Mauricio R. de Sant'Anna²(PQ)

1- Colégio Técnico da UFRRJ 2- Departamento de Química da UFRRJ.

Palavras Chave: via do chiquimato, EPSPS, EPSP, semi-empírico.

Introdução

Na sexta etapa da via do chiquimato ocorre a reação entre o chiquimato-3-fosfato (S3P) e o fosfoenolpiruvato (PEP) levando à formação de 5-enolpiruvil-chiquimato-3-fosfato (EPSP) e fosfato inorgânico, catalisada pela enzima EPSP sintase (EPSPS)¹, através de um processo adição-eliminação. Por estar ausente em animais e ser essencial para a sobrevivência de microorganismos e plantas, o entendimento dessa reação tornou-se interessante para o desenvolvimento de novos agentes bactericidas e herbicidas¹.

Dando continuidade a nossos trabalhos^{2,3}, apresentamos nesse trabalho uma nova proposta do mecanismo para a etapa de eliminação que consiste na doação de um próton do resíduo Lys432 para o oxigênio do grupo do fosfato do intermediário e a abstração de um próton do grupo metila pelo resíduo Glu362, provocando a saída do fosfato e formando o produto EPSP (fig. 1). O nosso objetivo é avaliar a viabilidade dessa proposta através de cálculos semi-empíricos.

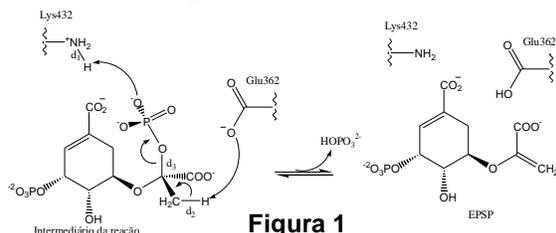


Figura 1

Resultados e Discussão

Foi usado um modelo de homologia da enzima³, obtido a partir da seqüência de aminoácidos da EPSP sintase do arroz e dos dados cristalográficos da EPSP sintase depositados no PDB com os códigos 1X8R⁴ e 1G6S⁵. Partindo do intermediário da reação inserido no sítio ativo da enzima, os cálculos foram executados utilizando o método PM3⁶ com o programa Mopac2002⁷. Para incluir efeitos da constante dielétrica da água no mecanismo, utilizamos o método COSMO⁸. A simulação computacional foi realizada em duas partes. Primeiro a distância d_1 (fig. 1) foi variada de 1,03 Å até 2,33 Å e resultou em sete estruturas que foram otimizadas e seus calores de formação calculados e usados para construir o gráfico da figura 2.

32ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química

Na segunda parte, a distância d_1 foi mantida livre em 1,70 Å, a distância d_2 foi variada de 1,10 Å até 2,30 Å, com incrementos de 0,30 Å e a distância d_3 foi variada de 1,40 Å até 3,20 Å, com incrementos constantes de 0,20 Å. Os calores de formação das 50 estruturas foram calculados e usados para construir a superfície de energia da figura 3.

Conclusões

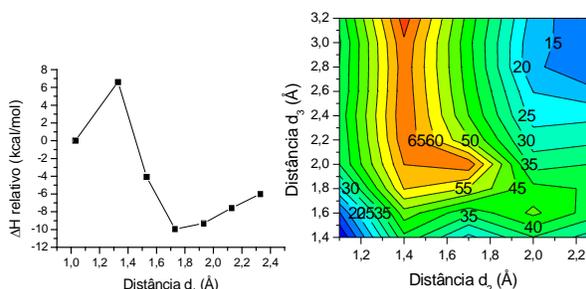


Figura 2

Figura 3

As visualizações das estruturas otimizadas confirmam a formação dos produtos. A análise das figuras 2 e 3 sugerem que a reação pode ocorrer em três etapas, sendo a primeira a abstração de um próton do resíduo Lys432 pelo oxigênio do fosfato, depois de ultrapassar uma barreira de aproximadamente 7 kcal/mol. Na segunda etapa, o resíduo Glu362 abstrai um próton da metila formando um carbânion no carbono C3 do fragmento do PEP, após ultrapassar uma barreira de 35 kcal/mol. Em seguida, ocorre a saída do hidrogenofosfato com formação do produto EPSP, após uma barreira de 5 kcal/mol.

Agradecimentos

FAPERJ, CNPq.

¹ Stauffer, M E., Young, John K., Evans, J. N. S.; *Biochemistry* **2001**, *4*, 3951.

² Souza, A. X., Sant'Anna, C. M. R., 28ª RASBQ, **2005**, resumo QB043; XIII SBQT, **2005**, resumo 173; 30ª RASBQ, **2007**, resumo 140; XIV SBQT **2007**, resumo, 85; 31ª RASBQ, **2008**, resumo QB-017.

³ Souza, A. X., Sant'Anna, C. M. R., *Bioorganic Chemistry*, **2008**, *36*, 113-120.

⁴ Priestman, M. A. *et al.*; *Biochemistry*, **2005**, *44*, 3241-3248.

⁵ Schönbrunn, E. *et al.*; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, *98*, 1376-1380.

⁶ Stewart, J. J. P.; *J. Comp. Chem.* **1989**, *10*, 209.

⁷ Stewart, J. J. P. MOPAC2002 v2.3, **2002**

⁸ Klamt, A., Schüümann, G., *J. Chem. Soc. Perkin Transactions* **1993**, *2*, 799.