

Comparação Teórica de Quatro Propostas de Mecanismo da Etapa de Eliminação da Reação do S3P e do PEP Catalisada Pela EPSP Sintase

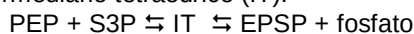
Anivaldo Xavier de Souza^{1,2}(PQ)*; Carlos Maurício R. Sant'Anna²(PQ). anivaldo@ufrj.br.

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

Palavras Chave: EPSP sintase, mecanismo de reação, método semi-empírico.

Introdução

Na sexta etapa da via do chiquimato ocorre a reação entre o fosfoenolpiruvato (PEP) e o chiquimato-3-fosfato (S3P) formando o 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato (EPSP) catalisado pela enzima EPSP sintase (EPSPS)^{1,2}, através de um processo adição-eliminação com formação de um intermediário tetraédrico (IT).



Por estar ausente em animais e ser essencial para plantas e microorganismos o entendimento desse mecanismo de reação tornou-se interessante para o desenvolvimento de fungicidas, bactericidas e herbicidas².

Nesse trabalho, são comparadas quatro propostas de mecanismo, para a etapa de eliminação, da reação entre o S3P e o PEP catalisado pela EPSPS de *Oryza sativa*.

Na proposta 1 a reação é simulada com a participação de Glu362 atuando como base interna. Na proposta 2, a base interna é Asp334. Na proposta 3, Glu362 atua como base e Lys432 atua como ácido. Na proposta 4, Asp334 atua como base e Lys432 atua como ácido.

Para as simulações computacionais das quatro propostas de mecanismo, foi construído um modelo de homologia da enzima com a sequência de aminoácidos da EPSPS de *Oryza sativa* e dos dados cristalográficos da EPSPS de *Escherichia coli* (1X8R e 1G6S)³. Como o modelo tinha milhares de átomos foram selecionados os aminoácidos com pelo menos um átomo em uma esfera de 6,5 Å em torno do IT. Os cálculos foram executados com o método PM3⁴ (Mopac2002, Fujitsu). Foi usado o método COSMO⁵ para simular o efeito do solvente aquoso. Para acelerar os cálculos dos sistemas, com mais de 700 átomos, foi usado o método de escalonamento linear Mzyme⁶.

Resultados e Discussão

Nas propostas 1 e 2 as simulações computacionais foram realizadas aproximando-se da base um hidrogênio metílico do IT, com o afastamento simultâneo do grupo do fosfato, em etapas. Nas propostas 3 e 4 as simulações computacionais foram realizadas em duas partes. Na primeira o ácido doa um próton para um oxigênio do grupo fosfato e na segunda ocorre a aproximação do hidrogênio metílico da base com o afastamento simultâneo do grupo do fosfato. Nas quatro simulações ocorreu a formação do produto EPSP.

33ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química

Para cada variação nas distâncias envolvidas foi calculada a entalpia de formação do produto. Foram construídas superfícies da entalpia em função das distâncias variadas. Os resultados mostraram os caminhos de reação com menor custo entálpico para cada mecanismo.

Os mecanismos 1 e 2 ocorrem em duas etapas, sendo que no mecanismo 1 forma-se um carbocátion como intermediário (pela saída do fosfato) e no 2 um carbânion (pela desprotonação de C3'), com barreiras similares. A barreira de entalpia a ser ultrapassada na segunda etapa é menor para o mecanismo 2 (saída do fosfato) do que para o mecanismo 1 (desprotonação de C3').

Ao comparar os mecanismos 3 e 4, pode ser observado que ambos ocorrem em três etapas. Na primeira etapa a barreira de entalpia a ser ultrapassada é a mesma para os dois mecanismos. Na segunda e terceira etapas, as barreiras a serem ultrapassadas são menores no mecanismo 3 do que no mecanismo 4.

Ao se comparar os mecanismos 2 e 3, observa-se que a barreira da primeira etapa no mecanismo 3 é de apenas 7 kcal/mol. No mecanismo 3, a segunda etapa tem barreira de 40 kcal/mol, mas a pequena barreira da primeira etapa e a soma das barreiras sugerem que o mecanismo 3 ocorre com maior facilidade quando comparado com o mecanismo 2.

Conclusões

Conclui-se que as quatro propostas simuladas do mecanismo levam à formação do produto EPSP. Os resultados também sugerem que dentre os quatro mecanismos o mais favorável é o 3 (menor soma das barreiras de entalpia).

Outras propostas de mecanismo para essa reação estão sendo avaliadas com a mesma metodologia.

Agradecimentos

Faperj, CNPq.

¹ Lewis, J., Johnson, K. A., Anderson, K. S. *Biochemistry* **1999**, 38 7372.

² Stauffer, M E, *et al.*; *Biochemistry* **2001**, 4, 3951.

³ Priestman, M. A. *et al.* *Biochemistry*, v-44, p-3241-3248, 2005.

⁴ Stewart, J. J. P.; *J. Comp. Chem.* **1989**, 10, 209.

⁵ Klamt, A.; Schüürmann, G. *J. Chem. Soc. Perkin Transactions*, **1993**, 2, p.799-805.

⁶ Stewart, J. J. P. *International Journal of Quantum Chemistry*. 1996, V. 58, p.113.