UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE FÍSICA

MODELAGEM QUÂNTICA DE INIBIDORES ENZIMÁTICOS

Daniel Trzesniak

Dissertação de Mestrado
submetida ao Instituto de Física
da Universidade de São Paulo

Orientador:

Prof. Dr. Sylvio R. A. Canuto

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Sylvio R. A. Canuto (IF-USP)

Prof. Dr. Hélio Chacham (IF-UFG)

Prof. Dr. Rogério Custódio (IQ-UNICAMP)

Financiado pela FAPESP

São Paulo

2002

FICHA CATALOGRÁFICA
Preparada pelo Serviço de Biblioteca e Informação
do Instituto de Física da Universidade de São Paulo

Trzesniak, Daniel Rodrigo Ferreira

Modelagem Quântica de Inibidores Enzimáticos.
São Paulo 2002.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo
Instituto de Física – Departamento Física dos Materiais e
Mecânica

Orientador: Prof. Dr. Sylvio R. A. Canuto
Área de Concentração: Física Molecular

Unitermos: 1. Inibidores Enzimáticos;
2. Modelagem Teórica; 3. Mecânica Quântica;
4. Espectroscopia; 5. Química Computacional.

USP/IF/SBI-027/2002

*“Conhecimento não é aquilo que você sabe,
mas o que você faz com aquilo que você sabe.”*

Aldous Huxley

AGRADECIMENTOS

Gostaria em primeiro lugar de agradecer a meus pais Piotr e Bernardete por me darem as condições necessárias para aprender e me desenvolver. Muito obrigado também à minha querida irmã Clarissa que mesmo sem perceber me ensinou bastante. Sou muito grato aos meus tios Luiz e Ana Rosa que me acolheram com muito carinho no início da minha vida acadêmica. Também agradeço a Paulo e Tânia que sempre deram muita força para mim. Agradeço a família que tenho pois foi fundamental para que eu tivesse condições de finalizar esse projeto.

Obrigado aos colegas de grupo Kaline, Puspito, Luís, Rivelino, Eudes, Thaciana, Valdemir, Eduardo, Ivam e Herbert, com quem discuto sobre os mais variados tipos de problema. Os três últimos se juntam à Ângela e ao Guillermo como companheiros de sala, que deixam o ambiente muito agradável e propício para o trabalho. Sou grato também a todos os demais colegas do departamento.

Um agradecimento muito especial a Fabiane, que sabe ser menina e mulher ao mesmo tempo. Obrigado por ter me ensinado a crescer. Sem dúvida eu não conseguiria chegar ao que sou hoje sem sua compreensão e afeto.

O professor Sylvio Canuto confiou em meu potencial e acreditou que juntos poderíamos realizar esse trabalho. Sem ele nada disso seria possível. Desse modo tenho muito a agradecer e espero um dia poder retribuir.

Esta dissertação de mestrado foi certamente uma fase muito importante de minha vida. Devo muita gratidão a todos os colegas, amigos e familiares que, de uma forma ou de outra, me deram força para continuar trabalhando duro e concluir mais esta etapa.

ABSTRACT

We have made a structural and electronic characterization of the enzyme inhibitors E-64 and CA030 using quantum chemistry techniques. Geometry optimizations are performed in the *ab initio* level with the Hartree-Fock and Density Functional Theory methods and these structures are then compared with crystallographic results obtained from the *Protein Data Bank*. The infrared vibration spectrum calculation has been carried out to assure that the theoretical structures are true minima. We also have made an assignment of the vibrational frequencies to the functional groups of the molecules. The electronic characterization is performed with the calculation of the ultraviolet-visible absorption spectrum. Solvent effects are taken into account the Self Consistent Reaction Field theory. A detailed analysis of the calculated spectra of E-64 and CA030 excitations is given and we have particularly studied the characteristic transitions around 200 nm. For both the E-64 and the CA030 we have identified the chromophore responsible for the characteristic transition of the inhibitors. In addition, we have considered the influence of the interaction of the CA030 with the enzyme cathepsin B by calculating the ultraviolet-visible spectrum of the inhibitor with the cysteine amino acid.

RESUMO

Realizamos uma caracterização estrutural e eletrônica dos inibidores enzimáticos E-64 e CA030 utilizando técnicas de química quântica. Otimizações de geometria são realizadas em nível *ab initio* com os métodos Hartree-Fock e Teoria do Funcional da Densidade e estas estruturas são então comparadas com os resultados cristalográficos obtidos do *Protein Data Bank*. O cálculo do espectro de vibração infravermelho foi realizado para assegurar que as estruturas eram pontos de mínimo. Nós também fizemos a atribuição das frequências vibracionais aos grupos funcionais das moléculas. A caracterização eletrônica é obtida com o cálculo do espectro de absorção ultravioleta-visível. Efeitos de solvente são contabilizados através da teoria de Campo de Reação Auto-Consistente. Uma análise detalhada das excitações do espectro calculado do E-64 e do CA030 é realizada e nós estudamos particularmente as transições características em torno de 200 nm. Tanto para o E-64 como para o CA030 nós identificamos o cromóforo responsável pela transição característica dos inibidores. Adicionalmente, nós levamos em consideração a influência da interação do CA030 com a catepsina B através do cálculo do espectro ultravioleta-visível do inibidor com o aminoácido cisteína.

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO.....	1-1
1.1. Bioquímica Molecular no Século XXI.....	1-1
1.2. Nosso Trabalho	1-3
2. CONCEITOS DE BIOQUÍMICA E QUÍMICA ORGÂNICA	2-1
2.1. Grupos funcionais.....	2-2
2.1.1. Hidrocarboneto	2-3
2.1.2. Hidroxila	2-3
2.1.3. Carbonila	2-4
2.1.4. Carboxila	2-4
2.1.5. Éster.....	2-4
2.1.6. Amino	2-5
2.1.7. Amida.....	2-5
2.1.8. Éter.....	2-6
2.1.9. Epóxido	2-6
2.1.10. Imino	2-7

2.1.11. Sulfidrina	2-7
2.2. Enzimas: estrutura	2-8
2.2.1. Aminoácidos e peptídios	2-8
2.2.2. Proteínas	2-14
2.2.3. Enzimas	2-17
2.3. Enzimas: cinética	2-18
2.3.1. Cinética química	2-18
2.3.2. Cinética de reações enzimáticas	2-20
2.4. Inibidores enzimáticos	2-25
3. MÉTODOS TEÓRICOS EM QUÍMICA MOLECULAR	3-1
3.1. Aproximação de Born-Oppenheimer	3-2
3.2. Método Hartree-Fock (HF)	3-5
3.3. Interação de Configurações (CI)	3-12
3.4. Abordagem Semi-Empírica e Campo de Reação	3-14
3.4.1. Métodos Semi-Empíricos: INDO/S	3-14
3.4.2. Campo de Reação Auto-Consistente (SCRF)	3-17
3.5. Teoria do Funcional da Densidade	3-19
4. RESULTADOS	4-1
4.1. Informações Técnicas	4-1
4.2. Molécula de E-64	4-2
4.2.1. Geometria	4-3
4.2.2. Espectro Vibracional IR	4-10
4.2.3. Espectro Eletrônico UV-vis	4-14
4.3. Molécula de CA030	4-20
4.3.1. Geometria	4-21
4.3.2. Espectro Vibracional IR	4-26
4.3.3. Espectro Eletrônico UV-vis	4-28
4.4. Interação do Inibidor CA030 com a Cathepsina B	4-33
4.4.1. Espectro Eletrônico UV-vis	4-34

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	5-1
5.1. Conclusão	5-1
REFERÊNCIAS	R-1
APÊNDICE A	A-1
A.1. Publicações	A-1