



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO SERTÃO
PERNAMBUCANO**

BACHARELADO EM AGRONOMIA

**AVALIAÇÃO IN-SILICO DE TERPENÓIDES ISOLADOS DE PLANTAS
MEDICINAIS COM POSSÍVEL AÇÃO NO FOTOSSISTEMA II**

Kayan Tamotsu Hasegawa¹
Vitor Prates Lorenzo²

¹ Graduando

² Orientador do projeto, professor do *Campus* Petrolina Zona Rural, do IF SERTÃO-PE

Petrolina, PE
2018

KAYAN TAMOTSU HASEGAWA

**AVALIAÇÃO IN-SILICO DE TERPENÓIDES ISOLADOS DE
PLANTAS MEDICINAIS COM POSSÍVEL AÇÃO NO
FOTOSSISTEMA II**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao IF SERTÃO-PE *Campus*
Petrolina Zona Rural, exigido para a
obtenção de título de Engenheiro Agrônomo.

Petrolina, PE
2018

RESUMO

Dentre as práticas de manejo de plantas espontâneas, o controle químico tem sido o mais utilizado em grandes áreas de plantio. Herbicidas inibidores do fotossistema II são essenciais para o alto rendimento das culturas favorecendo agricultura sustentável. Atualmente, plantas espontâneas resistentes ao controle de herbicida avançam em áreas de campos cultivados no Brasil e ameaçam o vantajoso sistema de plantio direto. Dessa forma os herbicidas naturais ganham uma maior importância para agricultura tanto familiar quanto no agronegócio. O presente trabalho realizou docking molecular com 17 terpenoides sobre o fotossistema II, objetivando ranquear estas moléculas com potencial inibição deste, assim como, compreender a interação intermolecular com o alvo. A estrutura do sítio do ativo do fotossistema II em complexo com terbutrina foi utilizado para performance do estudo de docking, empregando o programa Molegro Virtual Docker. O docking foi validado por redocking do ligante cristalizado no sítio ativo, resultando em boa sobreposição. Objetivo foi selecionar terpenoides com energia menor que a do ligante cristalizado terbutrina. Após avaliação por docking molecular, observou-se que 3 dos terpenoides avaliados tiveram energia de interação menor que a terbutrina, sendo todos do grupo éster, sugerindo uma afinidade deste grupo pelo fotossistema II.

Palavras-chave: fotossistema II, docking, terpenoides

ABSTRACT

Among the management practices of spontaneous plants, chemical control has been the most used in large areas of planting. Herbicides inhibiting photosystem II are essential for high yields of crops favoring sustainable agriculture. Currently, herbicide-resistant spontaneous plants are advanced in areas of cultivated fields in Brazil and threaten the advantageous no-tillage system. In this way the natural herbicides gain more importance for agriculture both in the family and in the agribusiness. The present work carried out molecular docking with 17 terpenoids on the photosystem II, aiming to rank these molecules with potential inhibition of this, as well as, to understand the intermolecular interaction with the target. The structure of the active site of photosystem II in complex with terbutrin was used for performance of the docking study, using the software Molegro Virtual Docker. The docking was validated by redocking the crystallized binder in the active site, resulting in good overlap. The objective was to select terpenoids with lower energy than the crystallized terbutrin binder. After evaluation by molecular docking, it was observed that 3 of the evaluated terpenoids had interaction energy lower than terbutrin, being all of the ester group, suggesting an affinity of this group for photosystem II.

Keywords: photosystem II, docking, terpenoids

AVALIAÇÃO IN-SILICO DE TERPENÓIDES ISOLADOS DE
PLANTAS MEDICINAIS COM POSSÍVEL AÇÃO NO
FOTOSSISTEMA II

Vitor Prates Lorenzo^a, Kayan Tamotsu Hasegawa^a

^a IF Sertão - Campus Petrolina Zona Rural, Petrolina, Brazil.

^a IF Sertão - Campus Petrolina Zona Rural, Petrolina, Brazil.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus pela dádiva da vida, logo após agradeço meus familiares e amigos que me proporcionaram a oportunidade de poder concluir minha graduação me dando força e animo para enfrentar as adversidades enfrentadas no decorrer dessa jornada, agradeço a Vitor Prates Lorenzo meu orientador e amigo por confiar em mim para elaboração e publicação desse projeto, aos meus avaliadores Laiana Oliveira Bastos Silva e Márcio Rennan Santos Tavares que enriqueceram muito o desenvolvimento do projeto, a minha mãe Marlene Gomes e meu pai Airton Mitsuo que sempre sonharam em dar uma boa educação aos filhos, a meu padastro Gilvan da Silva que nunca deixou faltar quando meus pais não podiam me dar suporte, a minha namorada Stéfanny Dayane que sempre me apoiou incondicionalmente e ao meu irmão Yuwan Takeo que é quem mais conhece as dificuldades que passamos para poder concluir os estudos e sermos graduados.

INTRODUÇÃO

O controle de plantas espontâneas é uma prática de suma importância para melhor rendimento na agricultura e tão antiga quanto a própria agricultura. As plantas espontâneas formam grande problema para a agricultura e é necessário controlá-las.

Conforme a espécie, a densidade e a distribuição da invasora na lavoura, as perdas são significativas. As espontâneas prejudicam a cultura, porque compete por luz solar, água e pelos nutrientes, podendo, a depender do nível de infestação e da espécie, dificultar a operação de colheita e comprometer a qualidade do produto final. Dessa forma, sendo necessário muitas vezes o uso de herbicidas. Os herbicidas são substâncias químicas capazes de selecionar populações de plantas. O termo “seleção” refere-se à atuação desses produtos, provocando a morte de certas plantas e de outras não.

O uso de herbicidas pode prevenir a interferência das plantas espontâneas principalmente no início do ciclo, período durante o qual as plantas espontâneas causam normalmente as maiores perdas nas culturas. É um aspecto importante quando na população de plantas espontâneas presentes são encontradas espécies de difícil controle pós-emergência, ou quando as mesmas são indesejáveis durante todo o ciclo da cultura, como no caso de áreas destinadas à produção de sementes. Além disso, o uso de herbicidas proporciona um controle mais efetivo nas linhas de plantio, onde muitas vezes outros métodos de controle não tem a mesma eficiência.

A flexibilidade quanto à época de aplicação, principalmente em áreas de grande extensão é desejável, pois o controle das plantas daninhas pode ser feito em etapas, adequando a demanda de trabalho ao maquinário, implementos e mão-de-obra disponível. Em muitas situações, há alternativas de tratamentos desde aqueles incorporados ao solo antes do plantio até aqueles aplicados em pós-emergência, diminuindo a concentração na demanda dos equipamentos. Além disso, alguns métodos de controle mecânicos são de uso limitado em épocas de precipitações frequentes (OLIVEIRA JR, 2011).

O local de ação destes herbicidas é na membrana do cloroplasto, onde ocorre a fase luminosa da fotossíntese, mais especificamente no transporte de elétrons (Christoffoleti, 1997). Uma planta é susceptível aos herbicidas inibidores da fotossíntese quando o herbicida se acoplar ao composto Q_B componente do sistema fotossintético e, assim, impossibilitar a ocorrência do transporte do elétron até a

plastoquinona. Dessa forma não existe a produção de ATP, pois o transporte de elétrons é interrompido, bem como a produção de NADPH.

Os pigmentos, as proteínas e outras substâncias químicas envolvidas na reação da fotossíntese estão localizados nos cloroplastos. Em condições normais, sem a interferência de inibidores fotossintéticos, durante a fase luminosa da fotossíntese, a energia luminosa capturada pelos pigmentos (clorofila e carotenóides) é transferida para um “centro de reação” especial (P680), gerando um elétron “excitado”. Este elétron é transferido para uma molécula de plastoquinona presa a uma membrana do cloroplasto (Qa). A molécula da plastoquinona “Qa” transfere o elétron, por sua vez, para uma outra molécula de plastoquinona, chamada “Qb”, também presa na proteína. Quando um segundo elétron é transferido para a plastoquinona “Qb”, a quinona reduzida torna-se protonada (dois íons de hidrogênio são adicionados), formando uma plastoidroquinona (QbH₂), com baixa afinidade para se prender na proteína. De maneira simplificada, a função da plastoidroquinona é transferir elétrons entre os fotossistemas II (P680) e I (P700).

Estudos realizados por Kuo et al., (1982) mostraram que o extrato aquoso das folhas de leucena (*Leucaena leucocephala*) inibiu o crescimento da radícula de plantas de alface (*Lactuca sativa*) e de arroz (*Oryza sativa*), já em outro trabalho apontaram algumas plantas de diferentes famílias como potencial no controle do picão preto (*Bidens pilosa*) usando extrato aquoso (CRUZ et al., 2002a).

O óleo essencial é o líquido obtido de uma planta, através de destilação ou extração química por solventes. Apesar do nome, ele nem sempre é um líquido gorduroso ou oleoso. Óleos voláteis obtidos de diferentes órgãos de uma mesma planta podem apresentar composição química, caracteres físico-químicos e odores bem distintos. Compete lembrar que a composição química de um óleo volátil extraído de um mesmo órgão de uma mesma espécie vegetal pode variar significativamente de acordo com a época, condições climáticas e solo.

Terpenos são compostos que fazem parte da constituição de óleos essenciais. Estes compostos são formados pela condensação de unidades de isopreno e quando contêm oxigênio são denominados terpenoides. (Toscan, C. M. 2010).

Estão universalmente presentes em pequenas abundâncias em organismo vivos, onde exercem numerosas funções vitais na fisiologia das plantas bem como papéis importantes nas membranas celulares. Em muitos casos estão em grande quantidade, apresentando extraordinária variedade de estruturas, possivelmente

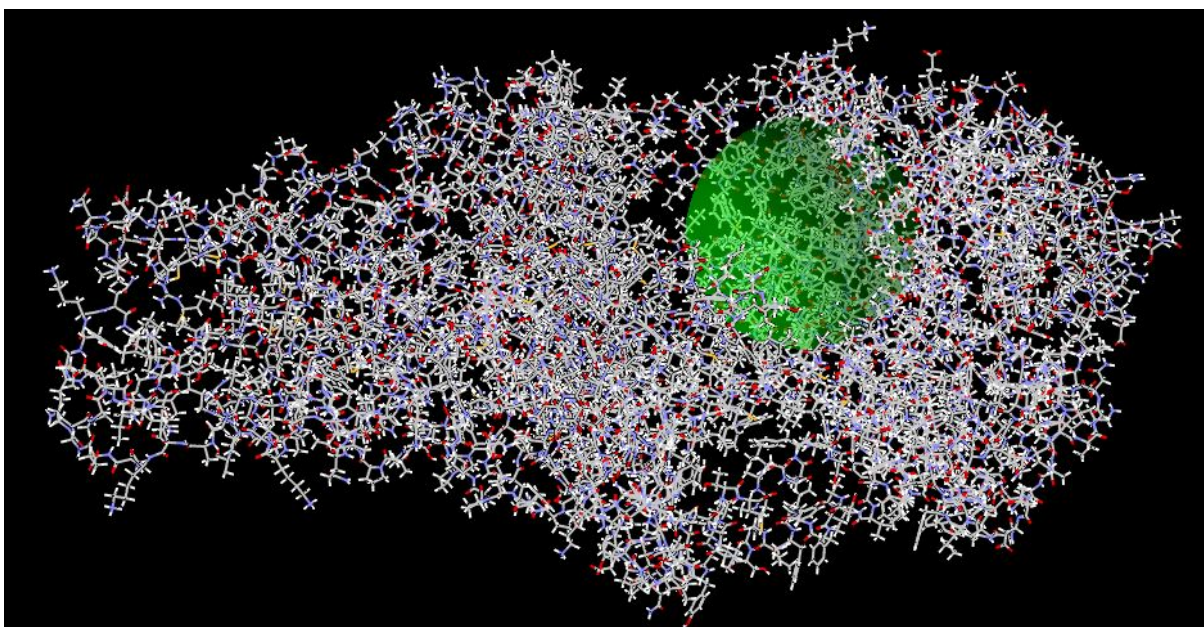
devido a um papel de comunicação, defesa ou mesmo evolucionário nos vegetais (BERGAMASCHI, J. M.).

Dependendo da família, os óleos voláteis cujos constituintes são na sua pluralidade os terpenos podem ser localizados em estruturas secretoras especializadas, tais como em pelos glandulares, células parenquimáticas diferenciadas, canais oleíferos ou em bolsas lisígenas. Estes óleos podem estar armazenados em certos órgãos, como nas flores, folhas ou ainda nas cascas dos caules, madeiras, raízes, rizomas, frutos ou sementes. Embora todos os órgãos de uma planta possam acumular óleos, sua composição pode variar segundo a localização (BERGAMASCHI, J. M.).

PARTE EXPERIMENTAL

Os óleos essenciais foram extraídos de 7 plantas cultivadas no horto medicinal do Instituto Federal Sertão Pernambucano *Campus* Petrolina Zona Rural, as quais foram: alecrim de vaqueiro (*Lippia Aff. Gracillis H.B.K*), capim santo (*Cymbopogon citratus*), confrei (*Symphytum officinale*), erva cidreira (*Melissa officinalis*), falso boldo (*Plectranthus barbatus*), hortelã (*Mentha*) e manjeriço (*Ocimum basilicum*). A extração do óleo essencial foi realizada no laboratório de química por meio de hidrodestilação em aparelho de Clevenger, processo no qual coloca-se o material vegetal fracionado em balão de fundo redondo posto em manta aquecedora por faixa de 2 horas. Este aparelho proporciona o processo de condensação extraíndo o óleo essencial presente no material. Foram selecionados os compostos majoritários do óleo, com abundância superior a 5%, totalizando 17 terpenóides, que foram desenhadas no programa Marvin Sketch, e canonizadas no Standardizer para adicionar hidrogênios, converter em aromático, limpar a estrutura em 3D e salvar no formato .sdf[JChem 14.9.1.0, 2014; ChemAxon (<http://www.chemaxon.com>)] (IMRE, 2003). A estrutura do centro de reação do fotossistema II em complexo com terbutrina, agroquímico comercial (PDB ID 1DXR) (LANCASTER et al., 2000), foi obtida do banco de dados Protein Data Bank (<http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>). As estruturas dos compostos foram submetidas à docking molecular, utilizando o programa Molegro Virtual Docker, v. 6.0.1 (MVD) (THOMSEN e CHRISTENSEN, 2006). A estrutura da proteína e dos ligantes foram preparadas utilizando a configuração padrão do programa (Score function: MolDock Score; Ligand evaluation: Internal ES, Internal HBond, Sp2-Sp2 Torsions, all checked; Number of runs: 10 runs; Algorithm: MolDock SE; Maximum Interactions: 1500; Max. population size: 50; Max. steps: 300; Neighbour distance factor: 1.00; Max. number of poses returned: 5). O grid foi definido manualmente, de modo a inserir o sítio ligante da estrutura, sendo posicionado em X:130.0, Y:70.0 e Z:0.0, com 15 Å de raio e 0.30 de resolução (figura 1).

FIGURA 1. SITIO ATIVO



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre os 17 terpenóides avaliados, 3 compostos expressaram energia de ligação inferior ao ligante terbutrina, (-103,071 Moldock energia), onde quanto menor a energia maior a afinidade do composto com os ligantes. Os valores de energia dos compostos avaliados estão dispostos no material complementar (tabela complementar).

Uma análise da estrutura química dos compostos com melhor performance permite sugerir uma afinidade dos terpenóides que apresenta em sua estrutura o grupo éster. Os três compostos com maior desempenho estão dispostos na tabela 1, com as respectivas energias de interação.

Tabela 1. Demonstra os três ligantes mais atuantes em relação a Terbutrina.

LIGANTE	ENERGIA
1,3 - BENZENEDICARBOXYLIC ACID, BIS (2ETHYLHEXYL) ÉSTER	-155,443
1,2 - BENZENEDICARBOXYLIC ACID, DIISOCTYL ÉSTER	-144,356
HEXANEIDIOIC ACID, BIS (2-ETHYLHEXYL) ÉSTER	-136,628
TERBUTRINA	-103,071

Com exceção do 1,2 - BENZENEDICARBOXYLIC ACID, DIISOCTYL ÉSTER que interagiu apenas com os aminoácidos histidina (his) e serina (ser), os demais terpenóides avaliados, interligaram-se aos mesmos aminoácidos que a terbutrina interage [isoleucina (ile), glicina (gly) e serina (ser)] e obtiveram melhores resultados (figuras 2 a 5).

Figura 2. 1,2 - BENZENEDICARBOXYLIC ACID, DIISOCTYL ÉSTER

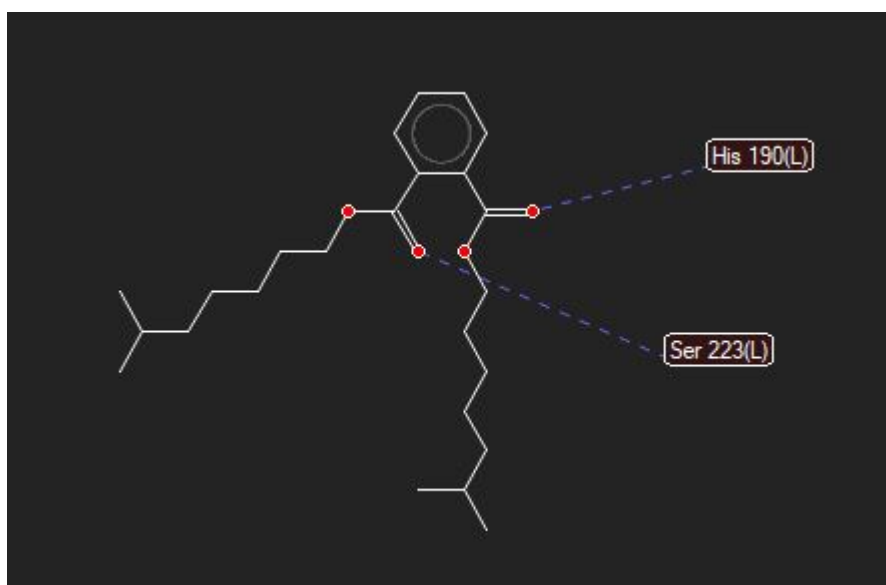


Figura 3. 1,3-BENZENEDICARBOXYLIC-ACID,BIS(2ETHYLHEXYL)ÉSTER

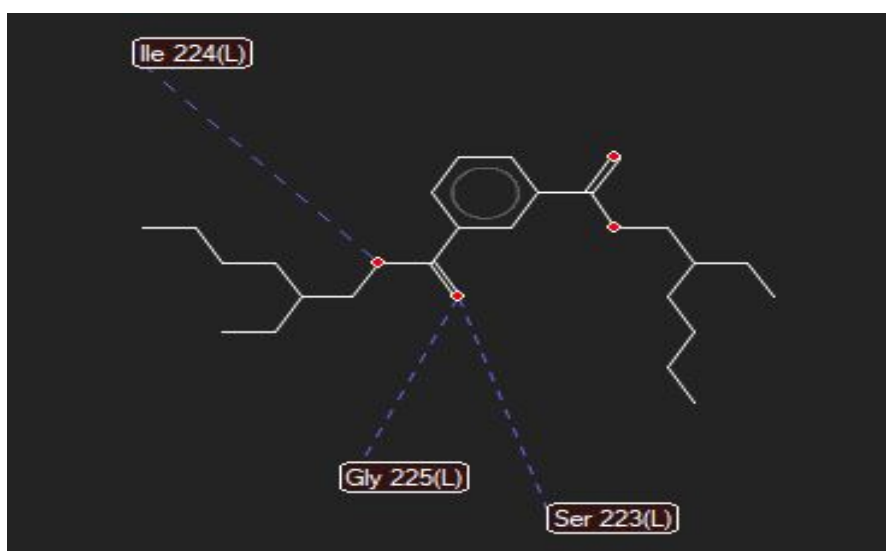


Figura 4. HEXANEIDIOIC ACID, BIS (2-ETHYLHEXYL) ÉSTER

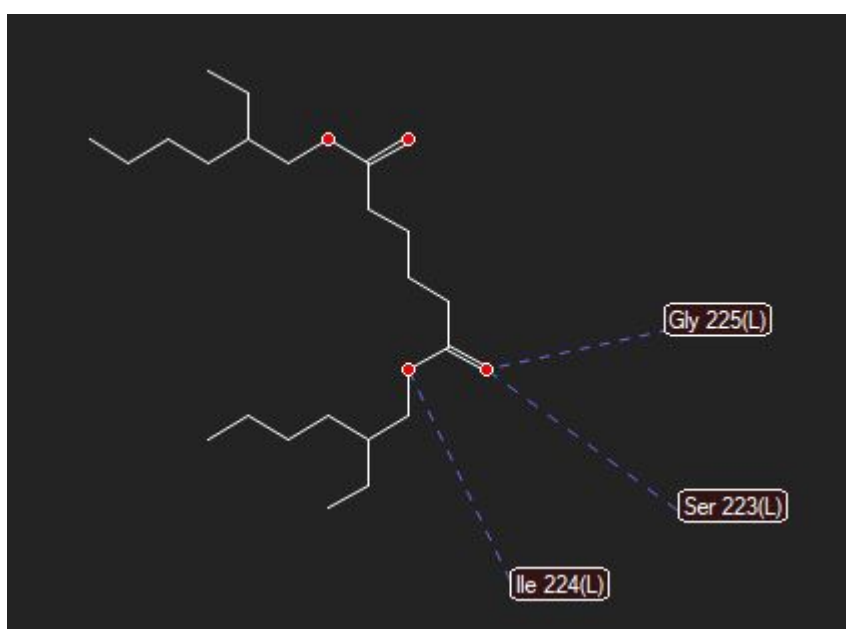
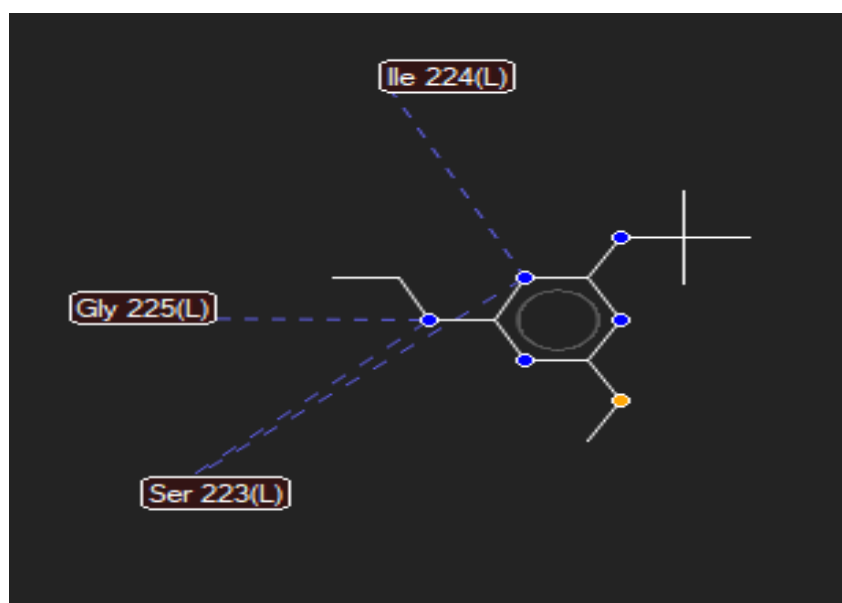


Figura 5. TERBUTRINA



CONCLUSÃO

O experimento proposto avaliou Terpenóides de óleos essenciais e seus respectivos potenciais como inibidores do fotossistema II para controle de plantas espontâneas. Dentre os 17 compostos avaliados mais a terbutrina apenas 3 tiveram o resultado com melhor performance quando equiparados a terbutrina que é de uso comercial, onde os mesmos apresentam em sua composição o ligante éster e sendo encontrado no óleo essencial da planta alecrim de vaqueiro (*Lippia Aff. Gracillis H.B.K*), abrindo possibilidades para maiores estudos com terpenóides desta espécie afim de confirmar a atividade observada in-silico.

REFERÊNCIAS

- BERGAMASCHI, J. M. Terpenos. Disponível em <http://www.terpenoil.com.br/tecnologia/terpenos.pdf> (acesso 05/02/2018).
- CHRISTOFFOLETI, P.J. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas. In: I **SIMPÓSIO SOBRE HERBICIDAS E PLANTAS DANINHAS**, Dourados – MS, EMBRAPA, 1997, p. 75-94.
- CRUZ, M.E.S.; SCHWANESTRADA, K.R.F.; NOZAKI, M.H.; BATISTA, M.A.; STANGARLI, N.J.R. **Efeito alelopático de *Cymonpogon citratus* e *Artemisia absinthium* sobre sementes de *Bidens pilosa***. Acta Horticulturae, The Hague, n 569, p 229-223, 2002a.
- IMRE, G., VERESSAC, G., VOLFORDD, A., FARKAS, Ö. Molecules from the 144 Minkowski space: an approach to building 3D molecular structure. **Journal of Molecular Struc-Theochem**. 666, 51-59, 2003.
- KUO, Y.L.; CHOU, C.H.; HU, T.W. **Allelopathic potencial of *Leucaena leucocephala***. **Leucaena Research Report**, v.3, p.65-70, 1982.
- LANCASTER, C. R. D.; BIBIKOVA, M.; SABATINO, P.; OESTERHELT, D.; MICHEL, H. **Strucutral of the drastically increased initial electron transfer rate in the reaction center from a *Rhodospseudomonas viridis* mutant described at 2.00 Å resolution**. The Journal of Biological Chemistry, v. 275, p. 39364-39368, setembro. 2000.
- OLIVEIRA JR, R.S. ; CONSTANTIN, J. ; INOUE, M. H. **Biologia e manejo de plantas daninhas**. (ed. 1º) Curitiba: Ed. Ompipax, 2011. v. 1. 348p.
- SIMÕES, C. M. O. ; SCHENKEL, E. P. ; GOSMAN, G. ; MELLO, J. C. P. de ; MENTZ, L. A. ; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Ed. 4ª. Porto Alegre/ Florianópolis: Editora UFRS/ UFSC, 2004.
- THOMSEN, R., CHRISTENSEN, M. H., 2006. **Moldock: a new technique for high accuracy molecular docking**. **Journal of Medicinal Chemistry**. 49(11), 3315-3321. ZIMDHAL, R.L. **Fundamentals of weed science**. San Diego, CA: Academic Press, Inc. 1993. 450 p.
- Toscan, C. M. Atividade antimicrobiana e antioxidante de terpenoides. Disponível em <https://repositorio.uces.br/xmlui/handle/11338/564> (acesso 15/03/2018).

TABELA COMPLEMENTAR

TABELA 2: TABELA CONTENDO TODOS OS TERPENÓIDES ANALISADOS E SUAS RESPECTIVAS ENERGIAS.

LIGANTE	ENERGIA
1,3 – BENZENEDICARBOXYLIC ACID, BIS (2- ETHYLHEXYL) ÉSTER	- 155,443
1,2 – BENZENEDICARBOXYLIC ACID, DIISOCTYL ÉSTER	-144,356
HEXANEDIOIC ACID BIZ (2 -ETHYLHEXYL) ÉSTER	-136,628
TERBUTRINA	-103,071
GERMACRENE D	-97,9925
CARYOPHYLLENE	-91,527
MENTHALACTONE	-89,0707
NERAL	-87,8382
2,6 – OCTADIENAL, 3,7 – DIMETHYL -, (E)	-85,6468
LINALOOL	-80,9722
ESTRAGOLE	-80,5703
THYMOL	-77,4122
MYRCENE	-77,1927
PHENOL, 2 METHYL	-75,045
VINIALMYL	-75,7056
CYMENE	-71,0568
TERPINENE	-70,9408
EUCALYPTOL	-58,8213