

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E  
TECNOLOGIA DO SERTÃO PERNAMBUCANO  
CAMPUS PETROLINA ZONA RURAL**

**CURSO DE BACHARELADO EM AGRONOMIA**

**AVALIAÇÃO IN-SILICO DE ALCALOIDES ISOQUINOLÍNICOS COM  
POSSÍVEL AÇÃO NO FOTOSSISTEMA II**

**RAFAEL VARJÃO CARDOSO**

**PETROLINA, PE**

**2017**

**RAFAEL VARJÃO CARDOSO**

**AVALIAÇÃO IN-SILICO DE ALCALOIDES ISOQUINOLÍNICOS  
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**

**2017**

**RAFAEL VARJÃO CARDOSO**

**AVALIAÇÃO IN-SILICO DE ALCALOIDES ISOQUINOLÍNICOS  
COM POSSÍVEL AÇÃO NO FOTOSSISTEMA II**

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

Aprovada em: \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_.

---

Eliatania Clementino Costa

---

Marcio Rennan Santos Tavares

---

Vitor Prates Lorenzo (Orientador)

## 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 e para apresentar uma 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 215 alcalóides isoquinolínicos no fotossistema II, objetivando ranquear estas moléculas, assim como, compreender a interação intermolecular com o alvo. A estrutura do centro de reação do fotossistema II em complexo com terbutrina (PDB ID 1DXR) utilizado para performance do estudo de docking, utilizando o programa Molegro Virtual Docker. O docking foi validado pelo redocking do ligante cristalizado no sítio ativo, resultando em boa sobreposição. Objetivo é selecionar alcalóides isoquinolínicos com energia menor que a do ligante cristalizado terbutrina. Após avaliação por docking molecular, observou-se que 86,5 % dos alcalóides avaliados tiveram energia de interação menor que a terbutrina. Foram selecionados os três alcalóides com menor energia de interação (IQ206, IQ192 e IQ 175) sendo todos do esqueleto bisbenzilisoquinolínicos, sugerindo uma afinidade deste esqueleto pelo fotossistema II.

Palavras-chave: fotossistema II, docking, alcalóides isoquinolínicos

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus, segundo minha família por está sempre ao meu lado apoiando em todas as etapas da minha graduação, agradeço a meu orientador Vitor Prates Lorenzo, minha colega de curso Luiza Almeida e ao Instituto Federal Sertão Pernambucano.

AVALIAÇÃO IN-SILICO DE ALCALOIDES ISOQUINOLÍNICOS COM  
POSSIVEL AÇÃO NO FOTOSSISTEMA II

**Vitor Prates Lorenzo<sup>a</sup>, Rafael Varjão Cardoso<sup>a</sup>**

<sup>a</sup>IF Sertão - Campus Petrolina Zona Rural, Petrolina, Brazil

<sup>a</sup> IF Sertão - Campus Petrolina Zona Rural, Petrolina, Brazil

## IN SILICO EVALUATION OF ISOKINOLINAL ALKALOIDS WITH POSSIBLE ACTION IN PHOTOSYSTEM II

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 and for presenting sustainable agriculture. Currently, herbicide-resistant spontaneous plants advance in areas of cultivated fields in Brazil and threaten the advantageous no-tillage system, thus natural herbicides gain greater importance for both family and agribusiness agriculture. The present work carried out molecular docking with 215 isoquinolinic alkaloids in photosystem II, aiming to rank these molecules, as well as to understand the intermolecular interaction with the target. The structure of the reactivity center of terbutry complex photosystem II (PDB ID 1DXR) used for docking study performance using the Molegro Virtual Docker program. The docking was validated by redocking the crystallized binder in the active site, resulting in good overlap. Aim is to select isoquinolinic alkaloids with lower energy than the crystallized terbutrin binder. After evaluation by molecular docking, it was observed that 86.5% of the alkaloids evaluated had interaction energy lower than terbutrin. The three alkaloids with the lowest interaction energy (IQ206, IQ192 and IQ 175) were selected, all of them being bisbenzylisoquinolics, suggesting an affinity of this skeleton for photosystem II.

**Keywords:** Photosystem II, docking, Isoquinolinic alkaloids

## 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 com ela compete pela luz solar, pela 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” se refere 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 após a 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).

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 (QbH<sub>2</sub>), 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).

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 se o herbicida se acoplar ao composto Q<sub>B</sub> 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<sub>2</sub>.

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

Alcaloides (termo linguisticamente derivado da palavra árabe *alquali*, denominação vulgar da planta da qual a soda foi originalmente obtida) são compostos nitrogenados farmacologicamente ativos e são encontrados predominantemente nas angiospermas. Na sua grande maioria, possuem caráter alcalino, com exceções tal como colchicina, piperina, oximas e alguns sais quaternários como o cloridrato de larifolina (SIMÕES et al., 2004). Os alcaloides podem ser encontrados em todas as partes de um vegetal, contudo, em um ou mais órgãos, haverá um acúmulo preferencial dessas substâncias.

Esse acúmulo ocorre principalmente em quatro tipos de tecidos ou células: (i) tecidos com crescimento ativo; (ii) células epidérmicas e hipodérmicas; (iii) bainhas vasculares e (iv) vasos lactíferos (SIMÕES et al., 2004).

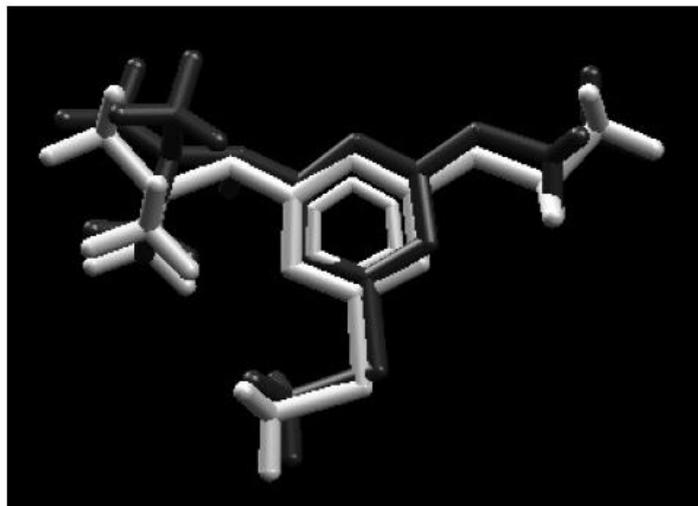
Tendo em vista o importante papel do uso de recursos naturais em substituição aos nocivos produtos químicos utilizados atualmente na agricultura em nível mundial, o presente trabalho objetiva avaliar o potencial de inibição do fotossistema II de 215 alcalóides isoquinolínicos por triagem *in silico* por docking molecular.

## PARTE EXPERIMENTAL

A estrutura dos 215 alcaloides isoquinolínicos foi desenhada no programa Marvin Sketch, e canonizada 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 (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 agrotóxicos 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 foi preparada 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.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

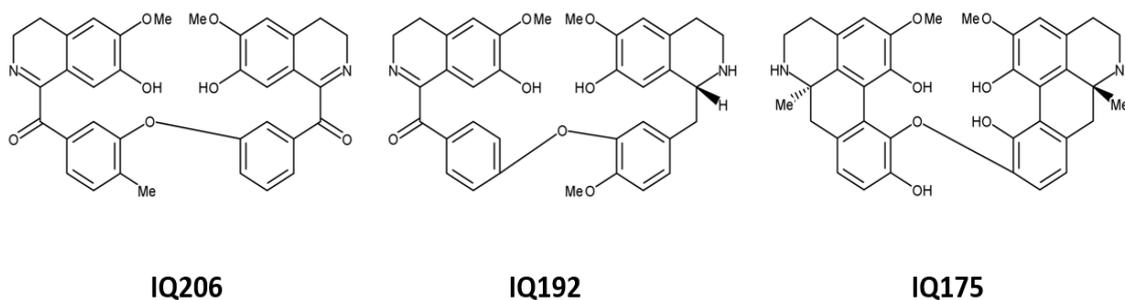
O docking foi validado pelo redocking do ligante original, terbutrina, no sítio ativo do fotossistema II como observado na cristalografia do arquivo pdb. A figura 1 mostra uma excelente sobreposição das estruturas. Os mesmos parâmetros foram utilizados para o estudo com o grupo de herbicidas avaliados.



**Figura 1.** Redocking da terbutrina, mostrado a sobreposição da pose obtida pelo docking com a cristalizada ao fotossistema II (PDB ID 1DXR). Em cinza está representada a pose obtida pelo docking, e em branco o ligante cristalizado.

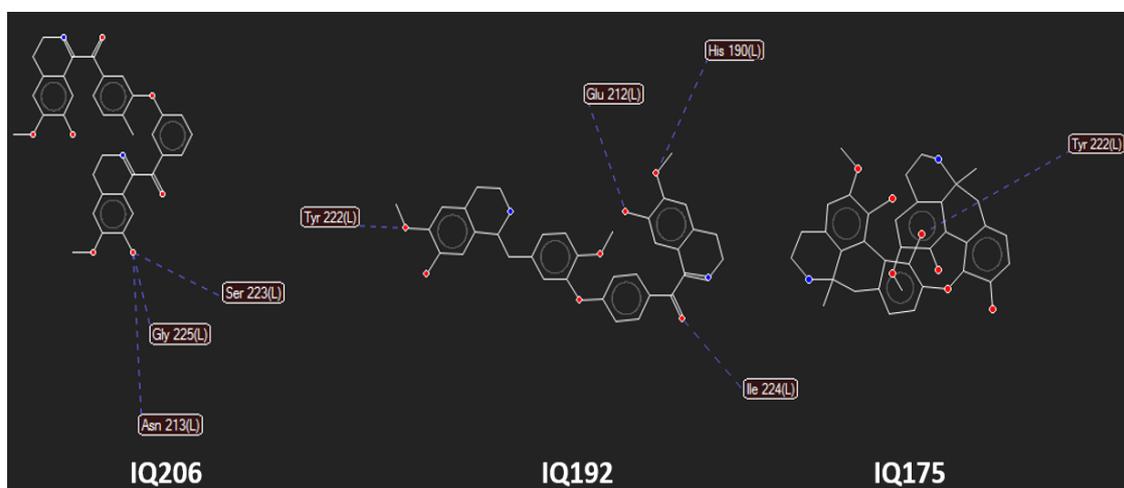
Dentre os 215 alcaloides isoquinolínicos avaliados, 186 apresentaram energia de ligação inferior ao ligante terbutrina (-104.5 Moldock energia), sugerindo uma afinidade deste grupo por este alvo (material suplementar S1), sendo todas classificadas como ativas.

Buscando avaliar os compostos com maior atividade, foram selecionados os três compostos com menor energia de interação (IQ206, IQ192 e IQ175). A avaliação da estrutura química dos compostos selecionados (figura 2) observa-se que estes compostos apresentam mesmo esqueleto químico, alcaloides bisbenzilisoquinolínicos.



**Figura 2.** Estrutura dos três alcalóides com melhor energia de interação com fotossistema II.

Na figura 3 pode-se observar os resíduos de aminoácidos do alvo que estão interagindo com as moléculas com melhor performance no estudo. As linhas tracejadas representam interações por ligação de hidrogênio. O resíduo tirosina 222 (Tyr222) apresenta interações com as moléculas IQ192 e IQ175. A presença de hidroxilas, metoxilas e carbonilas são importantes fatores no processo de ancoragem dos ligantes, muito embora em IQ206 observa-se que apenas uma hidroxila é responsável pelas três ligações de hidrogênio observadas.



**Figura 3.** Interações de ligação de hidrogênio (linhas pontilhadas) dos alcalóides selecionados com resíduos de proteína do fotossistema II.

## **CONCLUSÃO**

O presente estudo avaliou o potencial de 215 alcalóides isoquinolínicos como inibidores do fotossistema II. Foi possível observar enorme potencial deste esqueleto, uma vez que 86,5% destes compostos apresentaram energia de interação inferior ao observado pelo ligante co-cristalizado terbutrina. Avaliando os três compostos com melhor performance (IQ206, IQ192 e IQ175), observa-se que estes apresentam esqueleto bisbenzilisquinolínico, nos permitindo sugerir que este esqueleto apresenta enorme potencial herbicida, devendo outros estudos serem conduzidos para confirma esta atividade.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CHRISTOFFOLETI, P.J. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas. In: **SIMPÓSIO SOBRE HERBICIDAS E PLANTAS DANINHAS**, Dourados – MS, EMBRAPA, 1997, p. 75-94.
2. CRUZ, M.E.S.; SCHWANESTRADA, K.R.F.; NOZAKI, M.H.; BATISTA, M.A.; STANGARLIN, 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.
3. 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.
4. KUO, Y.L.; CHOU, C.H.; HU, T.W. **Allelopathic potencial of *Leucaena leucocephala***. *Leucaena Research Report*, v.3, p.65-70, 1982.
5. LANCASTER, C. R. D.; BIBIKOVA, M.; SABATINO, P.; OESTERHELT, D.; MICHEL, H. **Structural 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.
6. OLIVEIRA JR, R.S. ; CONSTANTIN, J. ; INOUE, M. H. **Biologia e manejo de plantas daninhas**. (ed. 1º) Curitiba: Ed. Omnipax, 2011. v. 1. 348p.
7. 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.
8. 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.

## MATERIAL SUPLEMENTAR

**Tabela 1S.** Resultados dos 215 alcaloides isoquinolínicos avaliados.

<b>Ligand</b>	<b>E-Total</b>	<b>59</b>	-133,4	<b>31</b>	-126,3
<b>213</b>	-175,8	<b>222</b>	-133,2	<b>92</b>	-125,9
<b>199</b>	-173,6	<b>89</b>	-133,2	<b>110</b>	-125,7
<b>182</b>	-162,9	<b>76</b>	-133,1	<b>27</b>	-125,4
<b>65</b>	-152,2	<b>180</b>	-133,1	<b>108</b>	-125,2
<b>94</b>	-148,5	<b>211</b>	-133,0	<b>87</b>	-124,9
<b>102</b>	-145,3	<b>16</b>	-132,9	<b>54</b>	-124,8
<b>197</b>	-144,3	<b>88</b>	-132,7	<b>21</b>	-124,6
<b>52</b>	-142,9	<b>218</b>	-132,5	<b>33</b>	-124,6
<b>132</b>	-141,3	<b>69</b>	-132,4	<b>158</b>	-124,4
<b>214</b>	-141,1	<b>206</b>	-132,3	<b>104</b>	-124,2
<b>95</b>	-140,8	<b>150</b>	-132,2	<b>97</b>	-124,2
<b>111</b>	-140,4	<b>178</b>	-132,1	<b>26</b>	-124,0
<b>66</b>	-139,7	<b>142</b>	-132,1	<b>175</b>	-123,8
<b>18</b>	-139,6	<b>195</b>	-132,1	<b>46</b>	-123,4
<b>15</b>	-139,0	<b>156</b>	-131,9	<b>58</b>	-123,3
<b>149</b>	-139,0	<b>85</b>	-131,7	<b>220</b>	-123,3
<b>176</b>	-138,8	<b>45</b>	-131,5	<b>155</b>	-123,2
<b>196</b>	-138,4	<b>53</b>	-131,4	<b>177</b>	-123,1
<b>57</b>	-138,3	<b>192</b>	-131,3	<b>202</b>	-123,1
<b>210</b>	-137,6	<b>146</b>	-130,8	<b>200</b>	-123,1
<b>205</b>	-137,2	<b>60</b>	-130,5	<b>47</b>	-122,9
<b>86</b>	-137,1	<b>48</b>	-130,1	<b>183</b>	-122,9
<b>147</b>	-137,0	<b>36</b>	-130,1	<b>159</b>	-122,6
<b>12</b>	-136,8	<b>173</b>	-130,0	<b>23</b>	-122,6
<b>50</b>	-136,6	<b>98</b>	-130,0	<b>216</b>	-122,5
<b>91</b>	-136,6	<b>100</b>	-130,0	<b>24</b>	-122,4
<b>10</b>	-136,2	<b>32</b>	-129,9	<b>29</b>	-122,4
<b>101</b>	-135,9	<b>168</b>	-129,5	<b>13</b>	-122,2
<b>19</b>	-135,7	<b>171</b>	-129,3	<b>9</b>	-122,1
<b>17</b>	-135,6	<b>90</b>	-129,3	<b>64</b>	-122,0
<b>70</b>	-134,5	<b>201</b>	-129,0	<b>105</b>	-121,5
<b>164</b>	-134,5	<b>179</b>	-128,4	<b>55</b>	-121,3
<b>148</b>	-134,4	<b>75</b>	-128,3	<b>41</b>	-121,3
<b>8</b>	-134,3	<b>42</b>	-128,2	<b>93</b>	-121,1
<b>67</b>	-134,3	<b>49</b>	-128,2	<b>170</b>	-120,9
<b>28</b>	-134,1	<b>157</b>	-128,1	<b>11</b>	-120,4

<b>51</b>	-133,8	<b>112</b>	-128,1	<b>107</b>	-120,2
<b>190</b>	-133,8	<b>160</b>	-127,4	<b>20</b>	-120,0
<b>204</b>	-133,7	<b>74</b>	-127,1	<b>44</b>	-119,8
<b>72</b>	-133,7	<b>14</b>	-126,8	<b>30</b>	-119,8
<b>116</b>	-119,7	<b>120</b>	-112,0	<b>77</b>	-93,6
<b>117</b>	-119,7	<b>71</b>	-111,6	<b>82</b>	-93,1
<b>153</b>	-119,5	<b>114</b>	-111,5	<b>106</b>	-89,9
<b>35</b>	-119,4	<b>121</b>	-111,4	<b>143</b>	-44,7
<b>73</b>	-119,4	<b>78</b>	-111,3	<b>145</b>	-44,6
<b>203</b>	-119,2	<b>152</b>	-111,3	<b>144</b>	-44,6
<b>56</b>	-118,9	<b>127</b>	-111,0		
<b>181</b>	-118,9	<b>151</b>	-110,7		
<b>136</b>	-118,8	<b>167</b>	-109,6		
<b>34</b>	-118,5	<b>187</b>	-108,5		
<b>62</b>	-118,3	<b>122</b>	-108,4		
<b>194</b>	-118,1	<b>115</b>	-108,3		
<b>172</b>	-117,9	<b>134</b>	-108,2		
<b>209</b>	-117,8	<b>161</b>	-107,9		
<b>166</b>	-117,7	<b>165</b>	-107,7		
<b>109</b>	-117,7	<b>189</b>	-107,7		
<b>169</b>	-117,7	<b>128</b>	-107,6		
<b>25</b>	-117,5	<b>139</b>	-106,4		
<b>198</b>	-117,5	<b>81</b>	-106,3		
<b>43</b>	-117,5	<b>219</b>	-106,3		
<b>174</b>	-116,9	<b>MST_502</b>	-104,5		
		<b>[L]</b>			
<b>207</b>	-115,5	<b>138</b>	-104,3		
<b>129</b>	-115,2	<b>113</b>	-104,1		
<b>119</b>	-115,1	<b>162</b>	-103,7		
<b>96</b>	-115,1	<b>38</b>	-103,6		
<b>212</b>	-115,0	<b>103</b>	-103,6		
<b>123</b>	-114,9	<b>99</b>	-103,6		
<b>126</b>	-114,9	<b>221</b>	-103,4		
<b>185</b>	-114,9	<b>79</b>	-103,3		
<b>135</b>	-114,8	<b>217</b>	-103,1		
<b>154</b>	-114,5	<b>141</b>	-102,8		
<b>163</b>	-114,5	<b>215</b>	-102,6		
<b>22</b>	-114,5	<b>37</b>	-102,2		
<b>186</b>	-114,0	<b>80</b>	-101,8		
<b>137</b>	-113,9	<b>124</b>	-101,3		
<b>63</b>	-113,9	<b>40</b>	-100,6		
<b>193</b>	-113,6	<b>131</b>	-100,6		
<b>61</b>	-113,5	<b>188</b>	-97,5		
<b>68</b>	-112,9	<b>84</b>	-97,5		
<b>118</b>	-112,7	<b>191</b>	-96,8		

<b>184</b>	-112,5	<b>140</b>	-96,1
<b>133</b>	-112,2	<b>208</b>	-96,1
<b>130</b>	-112,2	<b>83</b>	-95,5
<b>125</b>	-112,2	<b>39</b>	-94,1