

CÁLCULOS DE *DOCKING* DO HERBICIDA CLORIMUROM NA GLUTATIONA TRANSFERASE TAU4-4 ESPECÍFICA DE SOJA.

MENDES, J. E. ^{1,2}, ZUKERMAN-SCHPECTOR, J. ², CARACELLI, I. ³, MATHEUCCI JUNIOR, J. ^{1,2}, MAGANHI, S. H. ², DAN, L. G. M. ⁴

¹ **Programa de Pós-graduação em Biotecnologia** – UFSCar, Rodovia Washington Luis, Km 235, Tel.: (16) 3351-8030, CEP: 13565-905, São Carlos - SP (josianemendes.agro@gmail.com; euclimj@power.ufscar.br).

² **LaCrEMM** - Laboratório de Cristalografia Estereodinâmica e Modelagem Molecular, Departamento de Química, UFSCar, Tel.: (16) 3351-8064, São Carlos - SP. (julio@power.ufscar.br; stellamaganhi@gmail.com).

³ **BioMat** – Grupo de Física Teórica de Materiais e Biomoléculas, Departamento de Física, UNESP, Bauru - SP (Ignez@fc.unesp.br).

⁴ **Pós-graduação em Agronomia**, Departamento de Agronomia, Universidade Estadual de Maringá (UEM), Av. Colombo 5790, Tel.: (44) 3261 8940, CEP 87020-900, Maringá - PR. (liliangmdan@yahoo.com.br).

Resumo

As glutationas transferases (GST's), da classe Thau (GSTU) são específicas das plantas e têm papéis importantes na desintoxicação de herbicidas nas culturas e nas plantas daninhas. Considerando a importância econômica da soja e o fato que a tolerância aos herbicidas se baseia principalmente na capacidade de formação de um complexo herbicida - GST, estudou-se a formação de complexos da enzima da classe Thau, GSTU4-4, de soja com diferentes herbicidas. Neste trabalho apresentamos os resultados da formação de complexos com clorimurom. As coordenadas cristalográficas da enzima foram obtidas no PDB – 2vo4. Para o *docking*, utilizou-se o programa GOLD 4.0.1. Os átomos de H foram adicionados e todos foram tratados como acessíveis ao solvente. Dez moléculas de água que fazem interação com o ligante cristalográfico foram mantidas. Os cálculos de *docking* foram realizados considerando a cavidade onde estava o ligante da estrutura cristalográfica e os dois monômeros da enzima. Foi permitida a flexibilidade dos ligantes. Para cada composto foram geradas 10 soluções e posteriormente classificadas com *GoldScore*. Foram observadas interações com a Tyr107 e Arg111 presentes no sítio ativo. Utilizando parâmetros similares, foi possível construir o complexo pretendido GST + clorimurom. As águas no sítio ativo mostraram ter papel significativo no complexo modelado, como já tinha sido observado no complexo cristalográfico. A facilidade de formação dos complexos dos herbicidas com a enzima GSTU4-4 poderia explicar o fato de estes serem transformados, pela soja, em metabólitos não tóxicos para esta cultura.

Palavras-Chave: desintoxicação, plantas daninhas, interações.

Abstract

The glutathione transferases (GST's) of class Thau (GSTU) are specific to plants and play important roles in detoxification herbicides on crops and weeds. Considering the economic importance of soybeans and the fact that tolerance to herbicides is based primarily on the ability to form a complex herbicide - GST, it was studied the complex formation of the enzyme class Thau, GSTU4-4, of soybeans with different herbicides. The results of complex formation with chlorimuron were presented. The coordinates crystallographic enzyme were obtained from the PDB - 2vo4. For the docking, it was used the program GOLD 4.0.1. The H atoms were added and all were treated like accessible to solvent. Ten water molecules which interact with the ligand crystallographic were kept. The docking calculations were performed considering the cavity where were the crystallographic structure of the ligand and the two monomers of the enzyme. This allowed the flexibility of ligands. For each compound were generated 10 solutions and subsequently classified with *GoldScore*. Interactions were observed with Tyr107 and Arg111 present in the active site. Using similar parameters, it was possible to build the desired complex chlorimuron + GST. The waters in the active site showed to have a significant role on the modeled complex, as it had already been observed on the crystallographic complex. The ease of formation of

complexes of herbicides with the enzyme GSTU4-4 could explain the fact that they are processed, by the soybeans, in non-toxic metabolites for this culture.

Key Words: detoxification, weeds, interactions.

Introdução

As glutionas transferases, antes conhecidas como glutiona-S-transferases (GST's), da classe Thau (GSTU) são específicas das plantas e têm papéis importantes na desintoxicação de herbicidas nas culturas e nas plantas daninhas. Isto as torna especialmente importantes com relação à seletividade do herbicida e a segurança ambiental (Frova, 2006).

O Clorimurô é um herbicida que pertence ao grupo químico Sulfoniluréia (Anvisa, 2010), e age a inibindo a enzima acetolactato sintase (ALS) (Compendium of pesticide common names, 2010). É um herbicida seletivo, sistêmico, de ação pós-emergência indicado para o controle principalmente de plantas daninhas dicotiledôneas infestantes na cultura da soja (Anvisa, 2010). Entre as espécies sensíveis encontram-se *Desmodium tortuosum*, *Acatospermum australe*, *Ipomoea grandifolia* e *Bidens pilosa*. Já foram identificados biótipos *Bidens pilosa* e *Euphorbia heterophylla* resistentes aos herbicidas inibidores da ALS (Embrapa, 2006).

O princípio ativo é absorvido pelas folhas e raízes das plantas daninhas e desta forma se transloca pelo xilema e floema com movimentação para toda a planta, ocasionando o amarelecimento e morte da gema apical e mais tarde de toda a planta daninha. A ação do produto é lenta, sendo que só se evidencia a morte total da planta no período de 7 a 21 dias ocasionando o amarelecimento e morte da gema apical e mais tarde de toda a planta daninha (Nortox, 2010).

Considerando a importância econômica da soja e o fato que a tolerância aos herbicidas se baseia principalmente na capacidade de formação de um complexo herbicida-GST (Frova, 2006), estudou-se a formação de complexos da enzima da classe Thau GSTU4-4 de soja com diferentes herbicidas. Neste trabalho apresentamos os resultados da formação de complexos com o herbicida clorimurô.

Material e Métodos

As coordenadas cristalográficas da enzima foram obtidas no PDB (PDB, 2009) – 2vo4 (Axarli et al., 2009). Para o *docking*, utilizou-se o programa GOLD 4.0.1. (Jones et al., 1995). Os átomos de H foram adicionados e todos foram tratados como acessíveis ao solvente. Dez águas que fazem interação com o ligante cristalográfico foram mantidas. Os cálculos de *docking* foram realizados considerando a cavidade onde estava o ligante da estrutura cristalográfica e os dois monômeros da enzima. Foi permitida a flexibilidade dos ligantes. Para cada composto foram geradas 10 soluções e posteriormente classificadas com *GoldScore*.

Resultados e Discussão

Neste trabalho apresentamos os resultados da formação de complexos com o herbicida clorimurô. Foram observadas interações com a Tyr107 e Arg111 presentes no sítio ativo (Figura 1). De acordo com Axarli et al., (2009) relacionam estes aminoácidos com a atividade da enzima e sua atuação na modulação e regulação da atividade catalítica da enzima.

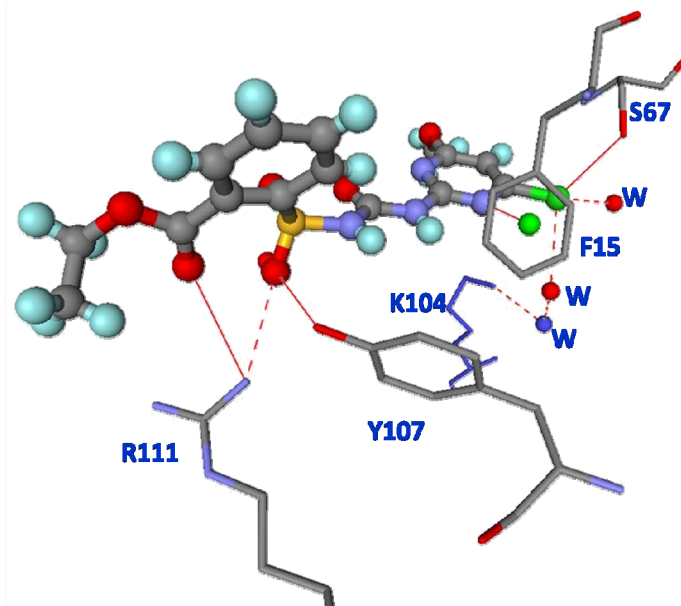


Figura 1. Clorimuron, alguns aminoácidos e águas no sítio ativo da glutatona transferase GSTU4-4, monômero A. Observa-se interações com aminoácidos integrantes da modulação da atividade catalítica Y107 e R111.

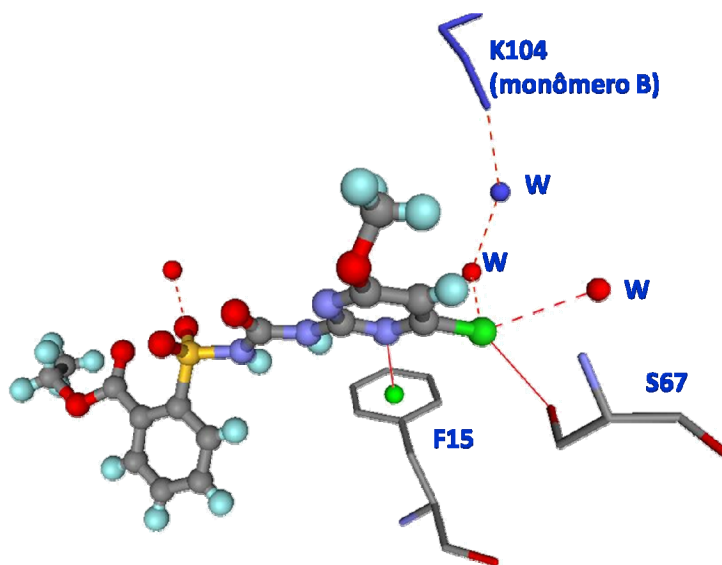


Figura 2. Clorimuron e detalhes das interações com a enzima GSTU4-4. O N4 do anel C11-N3-C12-C13-C14-N4 faz uma interação N- π com o anel da F15, com uma distância de 2,8 Å. O Cl faz interações com a S67 e com 2 águas (W) do monômero A. Uma das águas interage com a água do monômero B e com a K104 do monômero B, em situação semelhante à estrutura cristalográfica utilizada como base para os cálculos.

A facilidade de formação de um complexo dos ligantes com a enzima GSTU4-4 poderia explicar o fato de este herbicida ser transformado, pela soja, em metabólitos não tóxicos para esta cultura.

Referências Bibliográficas

- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. Índice monográfico: clorimuirom. Disponível em: < <http://www.anvisa.gov.br/toxicologia/monografias/c29.pdf>>. Acesso em: em: 10 abr. 2009.
- AXARLI, I.; DHAVALA, P.; PAPAGEORGIOU, A. C.; LABROU, N. E. Crystallographic and functional characterization of the fluorodifen - inducible glutathione transferase from *Glycine max* reveals an active site topography suited for diphenylether herbicides and a novel L-site. *J. Mol. Biol.* v. 385, p. 984-1002, 2009.
- COMPENDIUM OF PESTICIDE COMMON NAMES. Disponível em:< <http://www.alanwood.net/pesticides/chlorimuron.html> >. Acesso em: 10 abr. 2009.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. Embrapa Trigo Principais herbicidas recomendados para cultura de soja no preparo convencional e no sistema plantio direto-2006. Disponível em:<http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p_do62_17.htm>. Acesso em: 13 set. 2009.
- FROVA, C. Glutathione transferases in the genomics era: new insights and perspectives. **Biomol. Eng.** v. 23, p. 149–169, 2006.
- JONES, G.; WILLETT, P.; GLEN, R. C. Molecular recognition of receptor sites using a genetic algorithm with a description of desolvation. **J. Mol. Biol.** v. 245, p. 43-53, 1995.
- NORTOX S. A. **Produtos: clorimuirom**. Disponível em:< <http://www.nortox.com.br/detprod.php?id=5> >. Acesso em: 10 jun. 2009.
- PROTEIN DATA BANK – PDB. Disponível em: < <http://www.pdb.org/pdb/explore/explore.do?structureId=2VO4>>. Acesso em: em: 13 mar. 2009.