

## SIMULAÇÃO VIRTUAL DA ATIVIDADE DE MOLÉCULAS NÃO ESTEROIDais EM RECEPTOR DE ECDISTEROIDES DE HEMIPTERA

CIRO PEDRO GUIDOTTI PINTO<sup>1</sup>; RONALDO ZANTEDESCHI<sup>2</sup>; LETÍCIA RICKES<sup>2</sup>; MOISÉS JOÃO ZOTTI<sup>2</sup>; FILIPE PENTEADO<sup>2</sup>; ANDERSON GRUTZMACHER<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas - cpedroea@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas - ronaldozantedeschi@gmail.com; leticiarickes@hotmail.com; moises.zotti@ufpel.edu.br; penteado.filipe@gmail.com

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas- adgrutzm@ufpel.edu.br

### 1. INTRODUÇÃO

Os ecdisteroides são hormônios com papel fundamental na regulação de vários processos fisiológicos nos insetos, podendo-se citar a embriogênese, muda, metamorfose, reprodução e diapausa (KAMIMURA et al., 2014). Nas células dos insetos, os ecdisteroides se ligam a uma complexo protéico heterodímero que consiste do receptor de ecdisteroide (EcR) e ultraespiráculo (USP), ambos fatores transcriptomais pertencentes à superfamília de proteínas dos receptores nucleares (HILL et al., 2012).

O desenvolvimento de moléculas com estrutura não esteroidal, tendo como alvo o EcR de insetos, tornou-se uma estratégia atrativa no controle de pragas, uma vez que compostos atuantes em tais receptores tem o espectro de ação restrito apenas aos artrópodes. As moléculas que possuem tal característica disponíveis para o controle de pragas pertencem ao sub-grupo químico das Diacilhidrazinas (DAH), sendo que atualmente no Brasil, as únicas DAH registradas são tebufenozida e metoxifenozida (AGROFIT, 2016), específicas para espécies da ordem Lepidoptera. Apesar disso, em outros países existem produtos formulados à base de DAH com atividade em coleópteros, que é o caso da halofenozida (SMAGGHE et al., 2012). Não existem DAH com atividade conhecida para hemípteros, insetos os quais são de grande importância na agricultura, como por exemplo, a mosca-branca *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) na cultura do feijão e o pervejo-marrom *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) na cultura da soja.

É de suma importância o entendimento do mecanismo de ação com que tais moléculas ativam o EcR, para que a partir daí, se torne possível o design racional de novos compostos bioativos, cada vez mais eficazes no controle de pragas e seguros para o meio ambiente. Para tanto, sistemas computacionais de triagem com alto desempenho têm sido desenvolvidos (ZOTTI et al., 2013), viabilizando a análise virtual e seleção de uma grande quantidade de compostos com possível atividade biológica. Para o planejamento racional de inseticidas utiliza-se os princípios básicos da química orgânica, mecânica molecular e bioinformática. Com tais ferramentas, é possível elucidar virtualmente a atividade de moléculas já existentes ou desenvolver novas moléculas com possível atividade biológica para posterior síntese e teste *in situ/in vivo*.

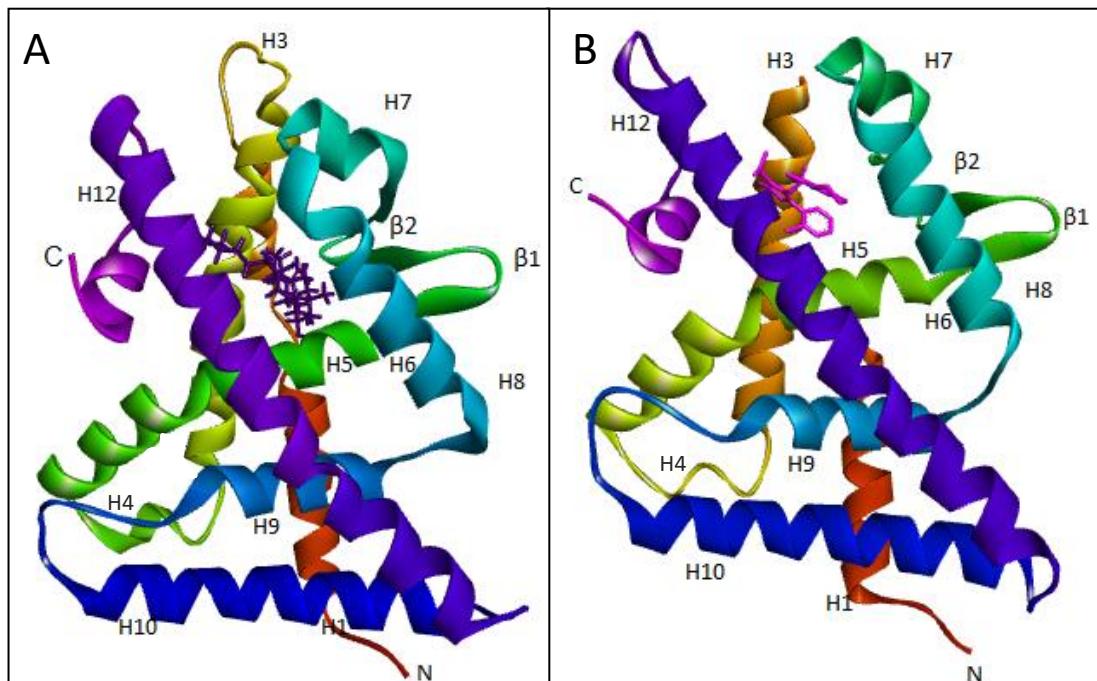
Com o exposto, o objetivo deste trabalho foi selecionar virtualmente, a partir de uma biblioteca de moléculas, compostos com estrutura não esteroidal, que possam apresentar atividade no EcR de hemiptera e comparar suas características aos hormônios naturais.

## 2. METODOLOGIA

Foram triadas e analisadas virtualmente, no EcR de *B. tabaci*, 76 DAH divididas em 7 grupos: Selenetosvinilicos, Selenoanilinas, Selenoindóis, Selenopiridinas, Telurofenóis, Tioindóis-dissubstituídos, Tioindóis-monosubstituídos. As moléculas foram desenhadas tridimensionalmente com base na biblioteca particular do Laboratório de Síntese Orgânica Limpa (Labsol) da Universidade Federal de Pelotas, para que conforme os resultados obtidos, se possa realizar sua síntese da molécula e teste em células de insetos ou organismos inteiros. Comparativamente, utilizou-se o ecdisteroide natural Ponasterona-A (PonA). Todas as computações e simulações foram realizadas no sistema operacional Microsoft Windows 7®, com o uso do software Discovery Studio®. A estruturas tridimensionais do ECR de *B. tabaci* (código PDB:1Z5X) e *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) (código PDB: 3IXP) foram obtidas do site Protein Data Base. A seleção da melhor molécula foi feita de acordo com parâmetros como: tamanho, ancoragem no sítio de ativo, hidrofobicidade, pontes de hidrogênio e semelhança entre interações de DAH's e PonA com o EcR.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As DAH atualmente disponíveis no mercado apresentam pouca ou nenhuma toxicidade a insetos que não lepidópteros. As diferenças toxicológicas entre a atividade de DAH e ecdisteroides nos lepidópteros podem ser atribuídas à forma com que estas se complexam no sítio de ligação do EcR, em que as cavidades de ligação sobrepõem-se apenas de forma parcial (Figura 1). Logo, como em hemípteros as DAH não tem atividade no EcR, da forma como ocorre nos lepidópteros, optou-se por escolher a mesma cavidade de ligação dos ecdisteróides, em que moléculas não esteroidais também podem vir a apresentar atividade biológica (HARADA et al., 2011).

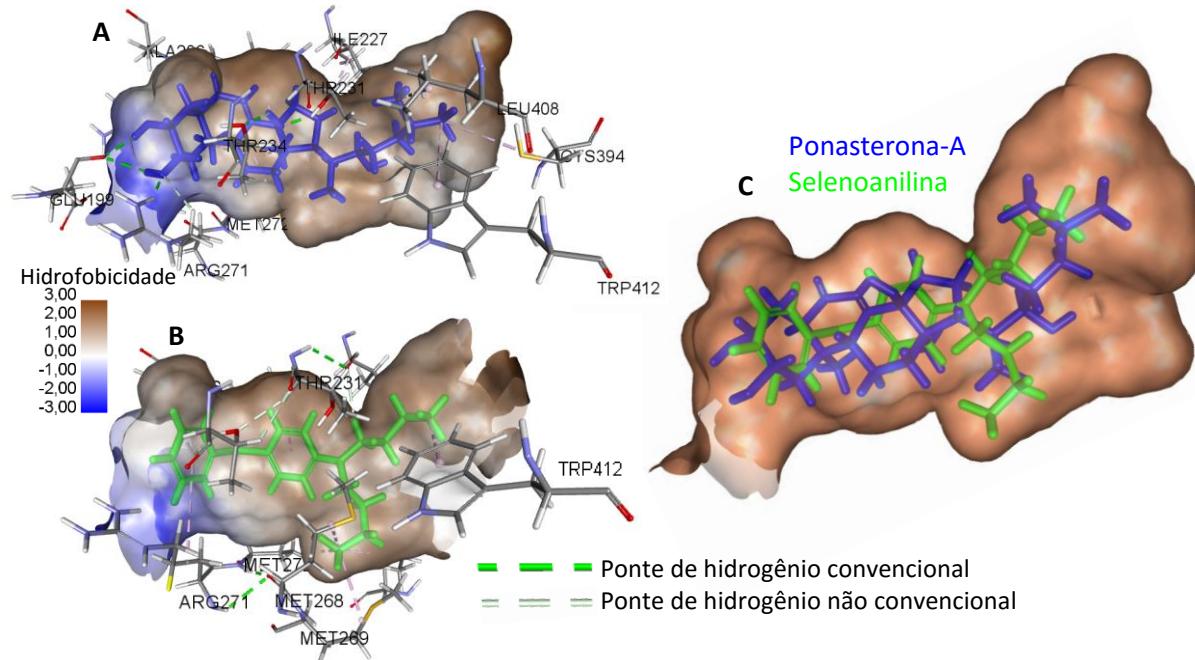


**Figura 1.** Estrutura tridimensional do receptor de escdisteroide de duas ordens de insetos. (A) EcR de *Bemisia tabaci* (Hemiptera) complexada com ponasterona-A. (B) EcR de *Heliothis virescens* (Lepidoptera) complexada com uma Diacilhidrazina. Pode-se observar a grande semelhança estrutural entre os EcR das duas diferentes ordens de insetos, apresentando análogos hélices- $\alpha$  e folhas-  $\beta$ .

No EcR de *B. tabaci* (único hemíptero disponível no PDB), uma vez que a PonA atinge o seu sítio específico de ligação, a cadeia alifática da mesma, por meio de ligações hidrofóbicas, ancola-se à resíduos dos aminoácidos CYS394, TRP412, LEU408, ILE283 (Figura 2A). A DAH que melhor se adequou ao EcR foi do grupo das Selenoanilinas. Esta molécula apresenta duas cadeias alifáticas, as quais se ligaram hidrofobicamente à resíduos dos aminoácidos MET272, MET269, MET268, LEU308 e TRP412 (Figura 2B).

Para a realização de triagem virtual de moléculas em EcR, um dos principais parâmetros a ser considerado é a presença de pontes de hidrogênio entre o receptor e o ligante (BROWNING et al., 2007). Pode-se observar na Figura 2A que a PonA forma seis ligações de hidrogênio com o EcR de *B. tabaci*, conformando uma forte ligação e caracterizando a específica atividade do hormônio no EcR. A molécula de Selenoanilina, apesar de não ter formado pontes de hidrogênio convencionais, como observado na PonA, formou duas pontes e hidrogênio não convencionais (Carbono/Hidrogênio) com os aminoácidos THR231 e ILE227 (Figura 2B).

Sobrepondo a molécula de Selenoanilina com PonA dentro da cavidade de ligação, pode-se observar que a ancoragem de ambas moléculas é semelhante, assim como o espaço a que ambas ocupam (Figura 2C). Como a Selenoanilina não extrapolou os limites da cavidade de ligação, este é mais um indício da possível atividade desta molécula no EcR de um hemíptero.



**Figura 2.** Modelo tridimensional do sítio de ligação do EcR de *Bernisia tabaci*. (A;B) Interface gráfica da ligação entre Ponasterona-A e Selenoanilina no EcR de *B. tabaci*, e respectivos aminoácidos envolvidos na interação. (C) Sobreposição da Selenoanilina na cavidade de ligação de PonA, mostrando a perfeita ancoragem de ambas moléculas no EcR.

#### 4. CONCLUSÕES

É possível, com o uso da bioinformática, triar e elucidar, com alto desempenho, a atividade de várias moléculas não esteroidais em receptores de

ecdisteroides de insetos, viabilizando o design racional de inseticidas para alvos e sítios de ligação específicos.

A molécula selecionada do grupo das Selenoanilinas poderá ser sintetizada e testada em organismos vivos, podendo vir a tornar-se um novo inseticida, eficaz e específico a insetos da ordem Hemiptera.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGROFIT – Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. Acesso em 15/06/2016. Disponível: [http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons).

BROWNING, C.; MARTIN, E.; LOCH, C.; WURTZ, J. M.; MORAS, D.; STOTE, R. H.; DEJAEGERE, A; BILLAS, I. M. Critical role of desolvation in the binding of 20-hydroxyecdysone to the ecdysone receptor. **Journal of Biological Chemistry**, v. 282, n. 45, p. 32924-32934, 2007.

HARADA, T.; NAKAGAWA, Y.; OGURA, T.; YAMADA, Y.; OHE, T.; MIYAGAWA, H. Virtual screening for ligands of the insect molting hormone receptor. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 51, n. 2, p. 296-305, 2011.

HILL, R. J.; GRAHAM, L. D.; TURNER, K. A.; HOWELL, L.; TOHIDI-ESFAHANI, D.; FERNLEY, R.; PHAN, T. 4 Structure and function of ecdysone receptors-interactions with Ecdysteroids and synthetic agonists. **Advances in Insect Physiology**, v. 43, p. 299, 2012.

KAMIMURA, M.; MATSUMOTO, H.; KIUCHI, M.; ITO, Y.; FUJIWARA, H.; SHINODA, T. Development of a cell-based assay for ecdysteroid quantification using an early ecdysteroid-inducible gene promoter. **Applied Entomology and Zoology**, v. 49, n. 3, p. 443-452, 2014.

SMAGGHE, G.; GOMEZ, L. E.; DHADIALLA, T.S. The bisacylhydrazine insecticides for selective pest control; In: DHADIALLA, T. S. (Ed.), **Advanced in insect physiology: Insect growth disruptors**, Oxford: Elsevier, 2012, p. 163-249.

ZOTTI, M. J.; GEYTER, E.; SWEVERS, L.; BRAZ, A. S.; SCOTT, L. P. B.; ROUGÉ, P.; COLL, J.; GRÜTZMACHER, A. D.; LENARDAO, E. J.; SMAGGHE, G. A cell-based reporter assay for screening for EcR agonist/antagonist activity of natural ecdysteroids in Lepidoptera (Bm5) and Diptera (S2) cell cultures, followed by modeling of ecdysteroid-EcR interactions and normal mode analysis; **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.107, p.23-33, 2013.