



UTILIZAÇÃO DE FERRAMENTAS DE BIOINFORMÁTICA PARA O PLANEJAMENTO RACIONAL DE MOLÉCULAS INSETICIDAS

LARISSA LONGARAY MACHADO^{1*}; BRUNO FARIA^{2*}; JULIANA WEGNER^{3*};
DANIEL ESTIVEN QUIROGA MÚRCIA⁴; MOISÉS JOÃO ZOTTI⁵

*Universidade Federal de Pelotas

larissa.longaraym@gmail.com¹; bruno.f.far@gmail.com²; juliana.wegner1@gmail.com³;
quiropedaniel@hotmail.com⁴; moises.zotti@ufpel.edu.br⁵

1. INTRODUÇÃO

A pesquisa e o desenvolvimento de novos compostos demandam a descoberta de moléculas com características químicas específicas e que interajam com macromoléculas biológicas, conhecidas como os receptores ou alvos moleculares (DOS SANTOS; FERREIRA; ANDRICOPULO, 2018). Nas últimas décadas, avanços na área foram fomentados pela integração de métodos já aclamados, como cristalografia de raio X, e técnicas *in silico*, como dinâmica molecular, modelagem e *docking molecular* (KALYAANAMOORTHY; CHEN, 2011).

A Triagem Virtual de compostos, exemplo de técnica *in silico*, destaca-se como uma importante ferramenta para a busca de moléculas promissoras (VERLI, et al., 2014). O grande avanço da Triagem Virtual para o planejamento de fármacos se dá devido a essa técnica representar um processo mais dinâmico e eficiente na busca de substâncias bioativas de interesse (RODRIGUES et, al. 2012).

Na área agrícola, são crescentes os impulsos para o desenvolvimento de métodos mais seletivos para o controle de insetos e compatíveis com os requisitos biológicos, toxicológicos, ambientais e sociais (ALTSTEIN et al., 1993). Assim, considerando tais preocupações com o manejo, ferramentas de bioinformática podem ser um instrumento de destaque na agricultura, assim como já ocorre na área farmacêutica.

No que diz respeito à descoberta de novos inseticidas, o receptor de ecdisona é um interessante candidato para o planejamento e desenvolvimento de inseticidas por ser ausente em humanos e outros mamíferos (BILLAS, et al., 2003). O receptor de ecdisona pode ser dividido em: agonistas de ecdisona; agonistas de esteroides da ecdisona e as dibenzohidrazinas (DBHs) (HU et al, 2017). Um exemplo de agonista da ecdisona é Tebufenozida, sendo este um agente seletivo no controle de lagartas, não apresentando grande impacto a organismos não alvo (CARLSON, 2000).

Assim, o objetivo deste estudo consiste em demonstrar a possibilidade de utilização de triagem virtual e sua aplicação na descoberta de novas moléculas inseticidas agonistas de ecdisona, utilizando o inseticida Tebufenozida como referência.

2. METODOLOGIA

O receptor nuclear empregado foi o receptor de ecdisona (EcR), e para a realização da triagem virtual, foram utilizados softwares da *OpenEye Scientific Software*. A experimentação *in silico* foi realizada no prédio LabAgro, na Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), e foi



embasada em programas de *virtual screening* e geração de conformações com OMEGA, como HAWKINS et al. (2010) e KEARNES; PANDE (2016).

O primeiro passo realizado foi a seleção de três bibliotecas de compostos, com o intuito de obter maior diversidade de compostos, sendo duas da empresa *Life Chemicals* e uma da *ChemDiv*. Essas bibliotecas são bancos de dados contendo diversas moléculas, para a realização da triagem virtual. Na sequência, procedeu-se à preparação destes bancos de dados através do programa OMEGA, que desenvolveu todas as conformações possíveis de cada molécula das bibliotecas analisadas.

O software OMEGA é essencial na preparação das moléculas antes da triagem, servindo como porta de entrada para tal. Assim, após a conclusão de todos os dados conformacionais de cada molécula, iniciou-se o procedimento no programa ROCS, o qual realizou a triagem virtual dos compostos do banco de dados e suas conformações.

Para o procedimento de triagem virtual, utilizou-se como referência a molécula Tebufenozida, um composto agonista de ecdisona que atua no EcR (ausente em humanos e outros mamíferos). O ROCS buscou, então, análogos do composto referência, gerando um novo banco de dados com os compostos *hits*, ou seja, aqueles que de alguma forma se mostraram parecidos com Tebufenozida, sendo todos pontuados a partir do coeficiente de Tanimoto.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados do programa OMEGA geraram dados para a biblioteca 1, 2 e 3. A biblioteca 1, de 236 compostos, a média de conformações por molécula foi de 98,495 obtendo um total de 23.245 conformações, já a biblioteca 2 de 2029 compostos, a média de conformações por molécula foi de 113,54, gerando 230.377 conformações e, por fim, para a biblioteca 3 de 150.000 compostos, a média de conformações por molécula foi de 153,397, gerando 23.009.581 conformações. Desta forma, esse software, de um total de 152.265 moléculas em três diferentes bibliotecas de compostos, gerou em média 121,82 conformações para cada molécula, resultando em um total de mais de 23 milhões de *conformers* possíveis para serem analisados.

Após essa preparação das moléculas com o programa OMEGA, o software ROCS foi utilizado para a triagem virtual, e, dentre os mais de 23 milhões de *conformers*, selecionou quais teriam potencial de ser análogos da molécula Tebufenozida sob os aspectos de similaridade por forma e complementaridades eletrostáticas, de acordo com o coeficiente de Tanimoto, os chamados *hits* (Tabela 1).

TABELA 1. Resultados numéricos de OMEGA e ROCS para cada biblioteca

Bibliotecas	Número de Moléculas	Conformações por moléculas	Conformers	Hits
Biblioteca 1	236	98,49	23.245	3
Biblioteca 2	2.029	113,54	230.377	12
Biblioteca 3	150.000	123,49	23.00581	500

Dados de conformações foram obtidos pelo software OMEGA e Hits pelo coeficiente de Tanimoto do software ROCS.

A relação entre o número de moléculas, conformações e *hits* após a triagem (Figura 1A) mostra que, para um total de 152.265 moléculas, aproximadamente



0,34% se mostraram com similaridade de acordo com o programa ROCS, sendo o resultado de 3, 12 e 500 *hits* para as bibliotecas 1, 2 e 3 respectivamente. A partir dessa relação, verifica-se, ainda, que, quanto maior o número de compostos a serem analisados com uma maior diversidade da biblioteca, mais interessante fica a triagem virtual, com maior chance de sucesso (Figura 1B).

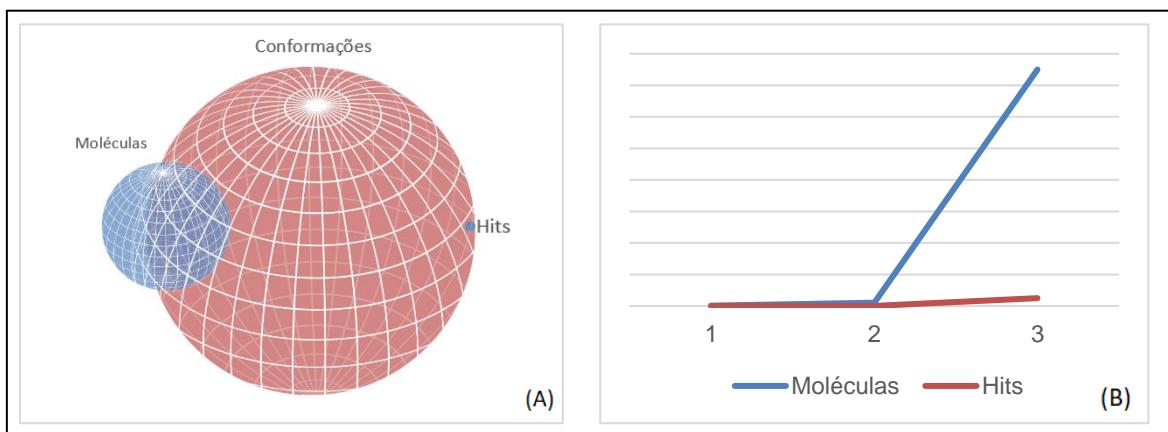


FIGURA 1. (A) Relação entre o número de moléculas, as conformações formadas por OMEGA e os Hits desenvolvidos por ROCS. (B) Quanto maior o número de moléculas, maior a diversidade e mais assertivo pode ser o screening.

O resultado obtido é um excelente caminho para o que foi proposto, uma vez que a triagem virtual reduziu o número de moléculas que possam vir a ser avaliadas como potenciais candidatas e, assim, ao invés de se trabalhar com 152.265 moléculas, pode-se estudar apenas com aquelas que obtiveram melhores valores no coeficiente. Essa redução de moléculas, que antecede futuras sínteses ou testes experimentais, gera uma porta de entrada para descoberta de novas moléculas, em outros estudos também, como FERRAZ et al. (2020) e FISCHER et al. (2020), porém com números de compostos analisados bastante superiores aos analisados e com outros objetivos.

4. CONCLUSÕES

A utilização de programas de triagem virtual mostra-se positiva na redução de candidatos a inseticidas a serem testados no futuro *in vitro* e/ou *in vivo*. Em consequência, verifica-se uma significativa economia de tempo e de recursos na busca de novos compostos, antes da síntese e de testes experimentais, o que acarreta em um melhor planejamento de forma racional no desenvolvimento e descoberta de novas moléculas inseticidas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALTSTEIN, M.; AHARONSON, N.; MENN, J. J. Overview: New targets for insect management in crop protection. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, v. 22, n. 1–2, p. 5–12, 1993.

BILLAS, I. M. L. et al. Structural adaptability in the ligand-binding pocket of the ecdysone hormone receptor. **Nature**, v. 426, n. 6962, p. 91–96, 2003.



CARLSON, G. R. Tebufenozide: A Novel Caterpillar Control Agent with Unusually High Target Selectivity. In: Green Chemical Syntheses and Processes. ACS Symposium Series. [s.l.] American Chemical Society, v. 767p. 8–17, 2000.

DOS SANTOS, R. N.; FERREIRA, L. G.; ANDRICOPULO, A. D. Practices in Molecular Docking and Structure-Based Virtual Screening. In: GORE, M.; JAGTAP, U. B. (Eds.). Computational Drug Discovery and Design. **Methods in Molecular Biology**. New York, NY: Springer p. 31–50, 2018.

FERRAZ, W. R. et al. Ligand and structure-based virtual screening applied to the SARS-CoV-2 main protease: an in silico repurposing study. **Future Medicinal Chemistry**, v. 12, n. 20, p. 1815–1828, 2020.

FISCHER, A. et al. Potential Inhibitors for Novel Coronavirus Protease Identified by Virtual Screening of 606 Million Compounds. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 10, p. 3626, 2020.

HAWKINS, P. C. D. et al. Conformer Generation with OMEGA: Algorithm and Validation Using High Quality Structures from the Protein Databank and Cambridge Structural Database. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 50, n. 4, p. 572–584, 2010.

HU, X. et al. Exploration of the binding affinities between ecdysone agonists and EcR/USP by docking and MM-PB/GBSA approaches. **Journal of Molecular Modeling**, v. 23, n. 5, p. 166, 2017.

KALYAANAMOORTHY, S.; CHEN, Y.-P. P. Structure-based drug design to augment hit discovery. **Drug Discovery Today**, v. 16, n. 17–18, p. 831–839, 2011.

KEARNES, S.; PANDE, V. ROCS-derived features for virtual screening. **Journal of Computer-Aided Molecular Design**, v. 30, n. 8, p. 609–617, 2016.

RODRIGUES, R. P.; MANTONI, S. P.; ALMEIDA, J. R.; PINSETTA, F. R.; SEMIGHINI, E. P.; SILVA, V. B.; SILVA, C. H. P. Estratégias de Triagem Virtual no Planejamento de Fármacos. **Rev. Virtual Quim**, 2012.

VERLI, H et al. Bioinformática da Biologia à flexibilidade molecular. **E-book Bioinfo UFRGS**, 2014.