

BIOINFORMÁTICA E DESCOBERTA DE POTENCIAIS MOLÉCULAS INSETICIDAS AGONISTAS DE ECDISONA

LARISSA LONGARAY MACHADO^{1*}; BRUNO FARIAS^{2*}; JULIANA WEGNER^{3*};
ÉRICMAR AVILA DOS SANTOS^{4*}; INDYRA FARIA DE CARVALHO^{5*}; MOISÉS
JOÃO ZOTTI^{6*}

**Universidade Federal de Pelotas*

*larissa.longaraym@gmail.com¹; bruno.f.far@gmail.com²; juliana.wegner1@gmail.com³;
ericmar.santos@gmail.com⁴; indyrafaria@gmail.com⁵; moises.zotti@ufpel.edu.br⁶*

1. INTRODUÇÃO

O crescimento dos insetos é orquestrado por hormônios (HARADA et al., 2011), como por exemplo, o hormônio de muda (ecdisona), sendo este, um importante alvo para identificar novos compostos seletivos. O receptor de ecdisona pode ser dividido em: agonistas da ecdisona; agonistas de esteroides da ecdisona e as dibenzohidrazinas (DBHs) (HU et al., 2017). Esses receptores são interessantes candidatos para auxiliar no desenvolvimento de inseticidas, por possuírem um alto nível de segurança em mamíferos, o que se dá, em partes, devido à ausência de receptores de ecdisona nestes organismos (BILLAS, et al., 2003).

A Tebufenozida, um exemplo de agonista da ecdisona, é um agente de controle de lagartas extremamente seletivo, que apresenta risco mínimo para organismos não alvo (CARLSON, 2000). Por essa razão, a Tebufenozida é considerada apropriada para o manejo em relação a alguns inimigos naturais em estudos recentes, como em FAGUNDES; ZANUZO; TAKAO (2019) em *Cotesia flavipes*, e com baixa toxicidade para o predador *Podisus nigrispinus* de acordo com SILVA et al., (2020).

Neste contexto, a Tebufenozida, assim como o hormônio 20-hidroxiecdisona (20E), atua no nível do receptor. Esse agonista transativa a expressão de genes regulados positivamente, e os genes regulados negativamente, normalmente expressos na ausência de 20E, não são expressos (RETNAKARAN et al., 2001), podendo causar morte celular, paralisia do movimento, mudança na homeostase, respiração larval comprometida, entre outras, ao organismos alvo (FIAZ et al., 2018).

A pesquisa voltada à descoberta de um análogo da Tebufenozida pode ser viabilizada através da utilização da bioinformática, especificamente por meio da técnica da Triagem Virtual. A aplicação para os fins mencionados se mostra exequível na medida em que a Triagem Virtual constitui uma importante ferramenta para o desenvolvimento e busca de moléculas promissoras (VERLI, et., al 2014), e em razão de as ferramentas computacionais terem se tornado uma abordagem promissora com o rápido crescimento da biologia molecular e estrutural (SCHERKENBECK et. al, 2009; GONG et al., 2013).

Assim, o objetivo do presente trabalho é buscar análogos estruturais da Tebufenozida, por meio do emprego da Triagem Virtual e de ferramentas computacionais, utilizando a realização de experimentação *in silico*.

2. METODOLOGIA

A experimentação *in silico* foi realizada no no prédio LabAgro, no *campus* universitário Capão do Leão, da Universidade Federal de Pelotas (UFPel). O receptor nuclear empregado foi o receptor do ecdisônio (EcR).

A metodologia é embasada em programas de *virtual screening* e geração de conformações com OMEGA, como em HAWKINS et al. (2010) e KEARNES; PANDE (2016), e programas de *docking molecular* para descoberta e avaliação biológica de estruturas (BORA; PACUREANU; CRISAN, 2020), além da utilização da bolsa de ligação da estrutura de cristal fundamentada de acordo com BILLAS et. al. (2003).

Foi realizada a seleção de banco de dados, contendo a biblioteca de compostos de *Life Chemicals* para a realização de triagem virtual. O preparo do banco de dados foi feito através do programa OMEGA, que auxiliou na reprodução de conformações bioativas.

Após o desenvolvimento de dados conformacionais, via OMEGA, os resultados geraram entrada para o programa ROCS, a ferramenta de triagem virtual, na qual se utiliza o coeficiente de Tanimoto para gerar pontuações.

A bolsa de ligação da estrutura de cristal dos domínios de ligação ao ligante do heterodímero EcR/USP foi resgatada via Protein Data Bank (PDB) para *Heliothis virescens* (BILLAS et al. 2003) e, como molécula referência na comparação de formas com o banco de dados, foi utilizado o agonista da ecdisona, a Tebufenozida. Por fim, foi realizado o *docking* das moléculas via FRED, acoplando as moléculas de maior desempenho, utilizando a pontuação *Chemgauss4*.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados obtidos pelo programa OMEGA mostraram que, para cada molécula analisada, foram geradas 113,54 conformações em média, resultando em 230.377 conformações totais, para o número de 2.029 moléculas no banco de dados.

No momento que esse número de conformações possíveis foi analisado na ferramenta de triagem virtual, obteve-se o valor de 12 *hits*, ou seja, 12 moléculas que, por meio da triagem virtual, mostraram-se semelhantes ao composto Tebufenozida e foram hierarquizadas por meio do coeficiente de Tanimoto. Destes 12 compostos resultantes da triagem virtual todos tiveram investigado o acoplamento da molécula na bolsa de ligação da estrutura, sendo que 2 apresentaram pontuações em *Chemgauss4* no programa FRED que resultam em percentuais de acoplamento superiores à 80% na biblioteca analisada, além do composto referência Tebufenozida (Tabela 1). Todos os 12 compostos acoplados pelo programa FRED, neste caso, estão dentro do intervalo de massa molecular de inseticidas e os melhores pontuados estão bem próximos da massa molecular média de moléculas inseticidas que é proposta como 324 para TICE (2001).

TABELA 1. Pontuações e ranqueamento do acoplamento.

Molécula	Total Score	Massa Molecular	% Acoplamento
Tebufenozida	- 13,77	352,5	96%
1476_64	-13,09	341,4	88%
9_24	-12,14	351,4	81%
1245_151	-11,61	381,4	73%
1174_25	-11,55	335,4	65%
1345_122	-11,00	297,3	58%
1415_97	-10,93	366,2	50%
1458_68	-10,85	337,4	42%

1335_39	-10,72	327,4	35%
7_41	-10,07	299,3	27%
1930_43	-9,34	386,8	19%
1891_116	-8,89	386,8	12%
1759_65	-8,73	386,8	4%

Dados obtidos e ranqueados por FRED de acordo com as pontuações de *Chemgauss4*.

Apesar do exposto, outros dados químicos devem ser levados em consideração além dos analisados no *software*. Dessa forma, neste momento, não seria interessante ainda descartar as moléculas antes de realizar uma análise química detalhada, bem como testes. Para os percentuais da tabela acima, foi utilizado como referência o *shape*, isto é, a forma de cada molécula, as ligações de hidrogênio com a proteína e a dessolvatação da proteína e do ligante. Percebe-se que o *software* ranqueou em primeiro lugar a molécula já consagrada como inseticida, que foi utilizada como referência.

Quando se aplica bioinformática à descoberta de novas moléculas, como ocorre nos estudos de triagem virtual de FERRAZ et al. (2020) e de BORA; PACUREANU; CRISAN (2020) de *docking molecular*, é verificada uma redução gradativa no número de compostos (Figura 1).

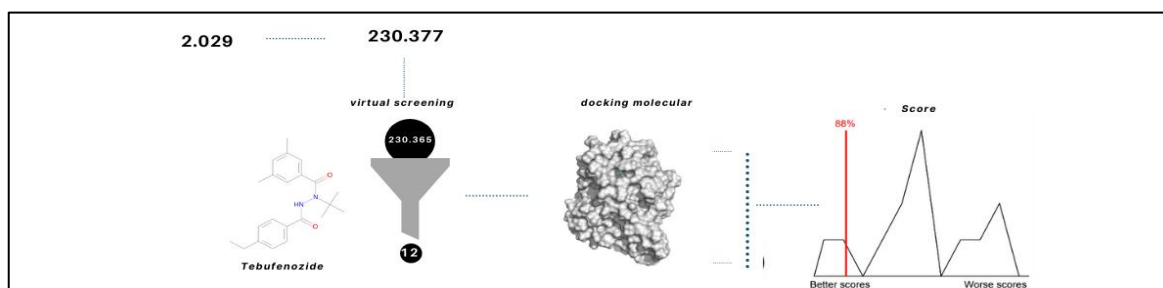


FIGURA 1. Ilustração da utilização da bioinformática para reduzir o número de ligantes a serem testados.

Essas informações geram resultados preliminares que indicam os compostos mais promissores para serem testados no desenvolvimento de novas moléculas.

4. CONCLUSÕES

Os análogos de Tebufenozida podem ser fortes candidatos para o desenvolvimento de novos inseticidas para o EcR (ausente em humanos e outros mamíferos), porém são necessários mais estudos químicos para confirmar se estes compostos se tornarão aspirantes, além da necessidade de uma maior quantidade de compostos a serem analisados. E ferramentas computacionais se mostraram relevantes na análise desses compostos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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.

BORA, A.; PACUREANU, L.; CRISAN, L. In Silico Study of Some Natural Flavonoids as Potential Agents against COVID-19: Preliminary Results. **Chemistry Proceedings**, v. 3, n. 1, p. 25, 2020.

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.

FAGUNDES M, T.; ZANUZO Z, O.; TAKAO Y, P. Impacts of seven insecticides on *Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae). **Ecotoxicology**, v. 28, n. 10, p. 1210–1219, 2019.

FIAZ, M. et al. Toxicological and morphological effects of tebufenozide on *Anticarsia gemmatilis* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. **Chemosphere**, v. 212, p. 337–345, 2018.

GONG, J. et al. PTID: an integrated web resource and computational tool for agrochemical discovery. **Bioinformatics**, v. 29, n. 2, p. 292–294, 2013.

HARADA, T. et al. Virtual screening for ligands of the insect molting hormone receptor. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 51, n. 2, p. 296–305, 2011.

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, 26 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.

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

RETNAKARAN, A. et al. Mode of action of the ecdysone agonist tebufenozide (RH-5992), and an exclusion mechanism to explain resistance to it. **Pest Management Science**, v. 57, n. 10, p. 951–957, 2001.

SCHERKENBECK, J. Modern trends in agrochemistry. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 17, n. 12, p. 4019, jun. 2009.

SILVA, W. M. et al. Respiration, predatory behavior and prey consumption by *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae) nymphs exposed to some insecticides. **Chemosphere**, v. 261, p. 127720, 2020.

TICE, C. M. Selecting the right compounds for screening: does Lipinski's Rule of 5 for pharmaceuticals apply to agrochemicals? **Pest Management Science**, v. 57, n. 1, p. 3–16, 2001.

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