



## POTENCIAL INIBITÓRIO DE COMPOSTOS NATURAIS DO ÓLEO DE *VALERIANA OFFICINALIS* NO RECEPTOR *nAChR* de percevejo

Jaime D. S. Filho<sup>1</sup>, Gabriel Q. Peixoto<sup>2</sup>, Tarcisio S. Melo<sup>1</sup>, Patrícia Santos<sup>1</sup>, Antônio J. F. Bento<sup>1</sup>, Rosane M. Aguiar<sup>1</sup>, Bruno S. Andrade<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Jequié, BA, Brasil;

<sup>2</sup>Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil.  
email: Patty19saanthos@gmail.com

**Palavras-Chave:** Modelagem por homologia, Docking molecular, óleo essencial

### Introdução

*Dichelops* spp., também conhecido como percevejo barriga-verde, é uma praga que afeta culturas de milho e trigo, causando prejuízos econômicos para a agricultura de países da América do Sul. E os inseticidas sintéticos são usados no controle de indivíduos desse gênero, no entanto, devido contaminação ambiental e resistência dos insetos a estes compostos, há necessidade de se buscar alternativas, minimizando danos à saúde humana e animal. Neste ínterim, os óleos essenciais extraídos de plantas vêm despertando interesse como substitutos aos inseticidas convencionais, devido às suas propriedades naturais e menor impacto ambiental. De forma que, este estudo objetivou identificar moléculas no óleo essencial da espécie *Valeriana officinalis*, que pudessem ser inibidores do receptor nicotínico de acetilcolina (*nAChR*) de percevejos *D. spp.*, utilizando uma abordagem computacional.

Os neonicotinóides são inseticidas sistêmicos que afetam a transmissão de impulsos nervosos em insetos, interrompendo a funcionalidade dos receptores nicotínicos de acetilcolina (*nAChRs*) específicos de insetos (Cheffer, 2008). Esses receptores neuronais pertencem à família de canais iônicos controlados por ligantes e são compostos por subunidades  $\alpha$  e  $\beta$ . Investigou-se sobre a planta *Valeriana officinalis*, que pertence à família Valerianaceae, que inclui plantas herbáceas, composta por aproximadamente 13 gêneros e 400 espécies distribuídas globalmente (Feng *et al.*, 2020). Devido a essas características, as Valerianaceae são amplamente empregadas nas indústrias farmacêutica e de perfumaria. Além disso, pesquisas detalhadas revelaram que essa família de plantas também apresenta propriedades inseticidas, larvicidas e repelentes contra uma variedade de insetos. E suas raízes e rizomas são amplamente utilizados na fitoterapia ao redor do mundo (Das *et al.*, 2023 *apud* Penzkofer *et al.*, 2018).

Na química computacional, a modelagem molecular é uma técnica fundamental que simula a estrutura e o comportamento de moléculas, sendo amplamente aplicada na biologia molecular e no desenvolvimento de fármacos e inseticidas. Uma ferramenta importante nessa técnica é o gráfico de Ramachandran, que ajuda a identificar as conformações permitidas de proteínas ao mapear os ângulos  $\phi$  (phi) e  $\psi$  (psi) dos resíduos de aminoácidos, facilitando a compreensão do dobramento e estabilidade das proteínas. Além disso, oferece indicações sobre as interações energéticas que influenciam essas conformações, sendo crucial para a análise estrutural de proteínas.

O docking molecular, por sua vez, prevê como moléculas, como ligantes e proteínas, interagem entre si, sendo essencial para projetar inibidores de proteínas-alvo. A técnica envolve



a previsão das conformações mais estáveis entre o ligante e a proteína, utilizando interações como ligações de hidrogênio e forças hidrofóbicas. Para uma abordagem eficaz, o acoplamento molecular precisa prever o modo de interação preferencial entre o ligante e a macromolécula objetivando compreender o complexo processo de reconhecimento molecular.

## Material e Métodos

Para a realização desse trabalho foi efetuada uma busca bibliográfica no Portal de periódicos CAPES, com o descritor *Valeriana officinalis* and *chemical composition*; *Valeriana officinalis* and *essential oil*. Os artigos foram lidos e selecionados, quanto a busca de informações sobre estudos prévios sobre a composição química de extrato de *V. officinalis*. Uma lista de estruturas químicas foi gerada e testadas frente ao acoplamento molecular do receptor nAChR.

E, na parte computacional, utilizou-se as bibliotecas de RNA de *Dichelops melacanthus* (SRR9203134, SRR9203136, SRR9203138, SRR9203140, SRR9203145, SRR9203148, SRR9203150, SRR9203152, SRR9203135, SRR9203137, SRR9203139, SRR9203141, SRR9203146, SRR9203149, SRR9203151, SRR9203153) obtidas do Sequence Read Archive (SRA) (Katz *et al.*, 2022). Os adaptadores foram removidos com BBDuk v39.06 (Bushnell, 2014), e a montagem do transcriptoma foi feita com Trinity v2.15.1 (Grabherr *et al.*, 2011). As análises foram feitas no servidor Sarapalha/Sagarana da UFMG. De forma que, a sequência foi elucidada, mas ainda não publicada em base de dados pública.

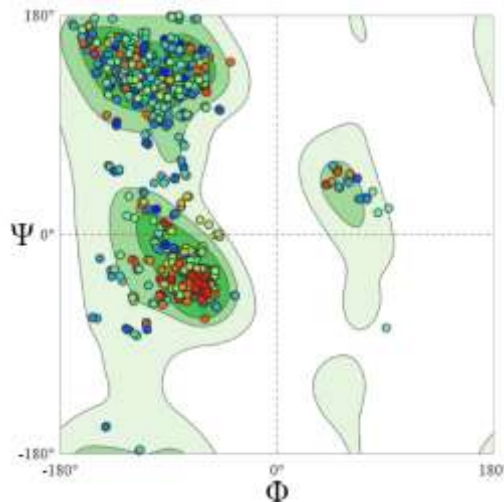
Foi realizado um alinhamento múltiplo entre a sequência alvo com os respectivos moldes e predição da estrutura secundária. Assim como, a construção do modelo tridimensional da proteína através da ferramenta SwissModel (Waterhouse *et al.*, 2018). Os ângulos de torção  $\phi$  (phi) e  $\psi$  (psi) da cadeia polipeptídica foram analisados através do Gráfico de Ramachandran para avaliar as conformações permitidas e desfavoráveis do modelo.

Em seguida, foi efetuada um acoplamento molecular do receptor nAChR e as moléculas encontrados na busca bibliográfica, através do software Autodock4 (Morris *et al.*, 2009). Além disso, foram feitas as análises de interação através do software Discovery Studio (Biovia, 2019) gerando os mapas 2D e posteriormente foram selecionados os cinco melhores ligantes.

## Resultados e Discussão

A maioria dos resíduos, conforme a Figura 1, cerca de 94.18% encontra-se nas regiões permitidas (em verde), o que indica a qualidade estrutural adequada do modelo. No entanto, alguns resíduos apresentam ângulos de torção em regiões desfavoráveis (fora das áreas verdes), mas estes não se encontram no sítio ativo. E, além disso, aqueles resíduos que provavelmente estão em conformações estaticamente desfavoráveis podem ser ajustados durante etapas futuras de dinâmica molecular através do uso do software Gromacs 2024.3 (Van der Spoel *et al.*, 2005), com o objetivo de estabilizar o modelo e melhorar a predição das interações intermoleculares.

Figura 1. Gráfico de Ramachandran do nAChR modelada



Foram identificadas cinco moléculas com maior afinidade, apresentando as energias de ligação:  $\gamma$ -Sitosterol (-6,14 Kcal/mol),  $\gamma$ -Eudesmol (-5,86 Kcal/mol),  $\alpha$ -Guaiene (-5,60 Kcal/mol),  $\beta$ -Selinene (-5,58 Kcal/mol) e  $\beta$ -Eudesmol (-5,57 Kcal/mol).

A figura 2,3,4,5 e 6 exibem interações químicas entre diferentes ligantes e resíduos de aminoácidos na proteína-alvo do nAChR. No caso do primeiro ligante, Figura 2, foram observadas ligações Alquil e Pi-Alquil nos resíduos (LYS-64, PHE-118, HIS-116); e os outros resíduos com interações de forças de van der Waals. O segundo ligante, Figura 3, apresentou interações Alquil e Pi-Alquil nos resíduos (PHE-118, TYR-196, HIS-116, LYS-114); ligações de hidrogênio no resíduo (ASP-193); e os outros resíduos com interações de forças de van der Waals. Já o terceiro ligante, Figura 4, exibe interações Alquil e Pi-Alquil nos resíduos (HIS-116, PHE-118, LYS-114, TYR-196); e os outros resíduos com interações de forças de van der Waals.

No caso dos ligantes, Figura 5, o quarto ligante apresenta interações Pi-Alquil (PHE-118, TYR-79, HIS-116); e os outros resíduos com interações de forças de van der Waals. E o quinto ligante, Figura 6, destaca-se com interações Pi-Alquil no resíduo (TYR-196); ligações de hidrogênio no resíduo (THR-152, HIS-116, LYS-114); e outros resíduos com interações de forças de van der Waals. Estas observações indicam uma acomodação variada dos ligantes no sítio de ligação do receptor, influenciando a estabilidade e afinidade das moléculas, o que pode ser importante para o desenvolvimento de inibidores ou moduladores eficazes para o alvo proteico.

Figura 2. Mapa de interação nAChR- $\gamma$ -Sitosterol

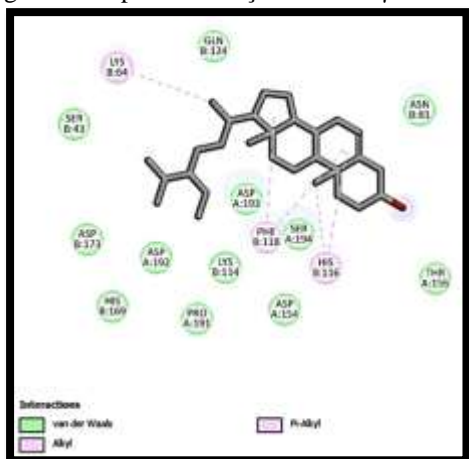


Figura 3. Mapa de interação nAChR- $\gamma$ -Eudesmol

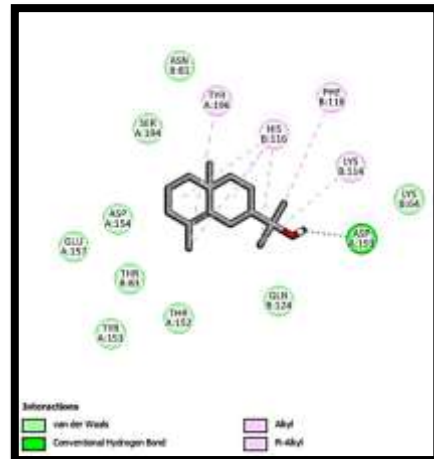


Figura 4. Mapa de interação nAChR- $\alpha$ -Guaiene

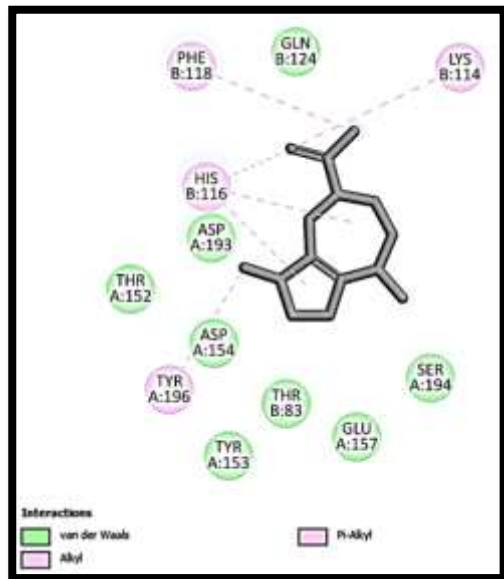


Figura 5. Mapa de interação nAChR- $\beta$ -Selinene

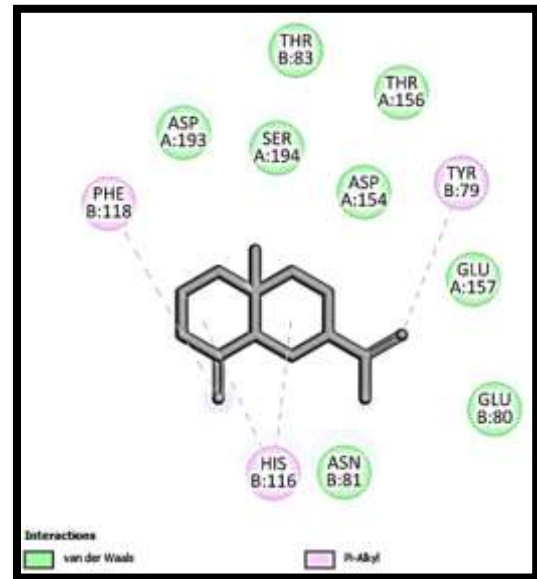
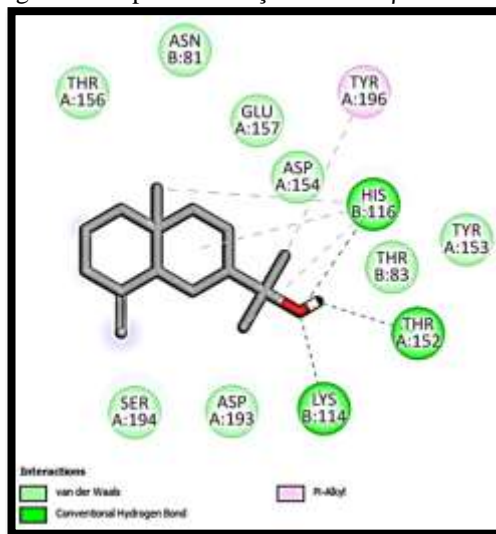


Figura 6. Mapa de interação nAChR- $\beta$ -Eudesmol



## Conclusões

Conclui-se que o modelo estrutural do nAChR demonstrou uma qualidade estrutural satisfatória, com 94,18% dos resíduos localizados nas regiões permitidas do gráfico de Ramachandran. No entanto, alguns resíduos estavam posicionados em regiões desfavoráveis, o que destaca a necessidade de ajustes durante a minimização de energia. Este processo seria necessário para aprimorar a previsão da conformação do modelo e, conseqüentemente, as interações de ligação.

A análise detalhada das interações químicas entre os ligantes e os resíduos de aminoácidos do receptor nAChR, conforme apresentado nas Figuras 2 a 6, revelou uma variedade de padrões de estabilização. Cada ligante demonstrou um perfil distinto de interação com a proteína, envolvendo interações van der Waals, Alquil e Pi-Alquil e ligações de hidrogênio. Esses dados sugerem que os ligantes têm a capacidade de se ajustar de maneira



eficiente no sítio de ligação do receptor, o que influencia diretamente a afinidade e a estabilidade do complexo receptor-ligante.

Há relevâncias destes resultados, pois foram identificados cinco melhores ligantes:  $\gamma$ -Sitosterol,  $\gamma$ -Eudesmol,  $\alpha$ -Guaiene,  $\beta$ -Selinene e  $\beta$ -Eudesmol. No entanto, é necessário a realização de docking molecular com inseticidas convencionais e compará-los com os resultados de energias de interação dos ligantes propostos. Com a finalidade de identificar a viabilidade de substituição de inseticidas sintéticos por compostos naturais dos extratos orgânicos e óleo essencial de *Valeriana Officinalis*, fundamentados nas características químicas e físicas que favorecem a estabilidade nas interações proteína-ligante.

E, além disso, tal abordagem contribui para uma agricultura mais sustentável. Pois, os achados fornecem uma base sólida para o desenvolvimento de novos inibidores ou moduladores alostéricos, com potencial para aplicações biotecnológicas significativas e para o controle eficiente de pragas.

## Agradecimentos

Ao Laboratório de Bioinformática e Química Computacional (LBQC) e Laboratório de Óleos Essenciais (LOE) da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB).

## Referências

- BIASI, L. A.; DESCHAMPS, C., Plantas aromáticas: do cultivo à produção de óleo essencial. Curitiba: Layer Studio Gráfico e Editora Ltda, 2009.
- BIASINI, M.; BIENERT, S.; WATERHOUSE, A.; ARNOLD, K.; STUDER, G.; SCHMIDT, T.; KIEFER, F.; CASSARINO, T. G.; BERTONI, M.; BORDOLI, L.; SCHWEDE, T. (2014). SWISS-MODEL: modelling protein tertiary and quaternary structure using evolutionary information. *Nucleic Acids Research* 42(1):252-258.
- Biovia, D.S. (2019) Discovery Studio Visualizer. San Diego.
- BORGES, M.; LAUMAN, R. A.; SILVA C. C.; MORAES, M. C. B; SANTOS, H. M. (2008). Metodologias de criação e manejo de colônias de percevejo da soja (Heteroptera: Pentatomidae) para estudos de comportamento e ecologia química. Documentos 182, EMBRAPA Recursos Genéticos e Melhoramento, Brasília, Brasil, pp 1–18.
- Bushnell B., 2014. BBTools software package. URL <http://sourceforge.net/projects/bbmap>.
- CHEFFER, A. Mecanismos de inibição do receptor nicotínico de acetilcolina  $\alpha\beta 4$  pela tacrina. 2008, 63f. Dissertação (Mestrado em bioquímica) –Universidade de São Paulo, São Paulo.
- CRUZ, I.; VIANA, P. A.; WAQUIL, J. M. Manejo das pragas iniciais de milho mediante o tratamento de sementes com inseticidas sistêmicos. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, 1999. 39p. (Circular Técnica 31).
- Feng YX, Wang Y, Geng ZF, et al. Contact toxicity and repellent efficacy of Valerianaceae spp. to three stored-product insects and synergistic interactions between two major compounds camphene and bornyl acetate. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2020 Mar;190:110106. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2019.110106. PMID: 31877546.
- GASSEN, D. N. Manejo integrado de pragas do trigo. *Inf Agrop, Passo Fundo*, n.9, p.47-49, 1983.
- GRABHERR, M. G.; HAAS, B. J.; YASSOUR, M.; et al. Full-length transcriptome assembly from RNA-Seq data without a reference genome. *Nature Biotechnology*, v. 29, n. 7, p. 644–652, 2011.
- KATZ, K.; SHUTOV, O.; LAPOINT, R.; et al. The Sequence Read Archive: a decade more of explosive growth. *Nucleic Acids Research*, v. 50, n. D1, p. D387–D390, 2022.
- LASKOWSKI, R. A.; MACARTHUR, M. W.; MOSS, D. S.; THORNTON, J. M. (1993).



MARTINS, G.L.M. et al. Controle químico do percevejo barriga-verde *dichelops melacanthus* (hemiptera: pentatomidae) na cultura do milho. Instituto de Biologia, São Paulo, v.76, n. 3, p. 475-478, set. 2009. Doi: <https://doi.org/10.1590/1808-1657v76p4752009>.

MORRIS, G. M.; HUEY, R.; LINDSTROM, W.; et al. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of Computational Chemistry*, v. 30, n. 16, p. 2785–2791, 2009.

PROCHECK - a program to check the stereochemical quality of protein structures. *J. App. Cryst.* 26, 283-291.

SAS Institute (2008) SAS/STAT User's Guide. Cary, NC.

SILVA C. C.; LAUMAN R. A.; BLASSIOLI M. C.; PAREJA M.; BORGES, M. (2008). *Euschistus heros* mass rearing technique for the multiplication of *Telenomus podisi*. *Revista Scielo. Pesq. Agropec. Bras.* 43:575–580.

SNODGRASS, G. L., ADAMCZYK, J. J. , GORE, J. (2005). Toxicity of insecticides in a glass-vial bioassay to adult brown, green, and southern green stink bugs (Heteroptera: Pentatomidae). *Journal of Economic Entomology*, 98: 177–181.

VAN DER SPOEL, D.; LINDAHL, E.; HESS, B.; et al. GROMACS: fast, flexible, and free. *Journal of computational chemistry*, v. 26, n. 16, p. 1701–18, 2005.

WATERHOUSE, A.; BERTONI, M.; BIENERT, S.; et al. SWISS-MODEL: Homology modelling of protein structures and complexes. *Nucleic Acids Research*, v. 46, n. W1, p. W296–W303, 2018. Oxford University Press.

WILLRICH, M. M.; LEONARD B. R.; COOK D. R. (2003). Laboratory and field evaluations of insecticide toxicity to stink bugs (Heteroptera: Pentatomidae). *Journal of Cotton Science*. 7:156–163.