



BIOQUIMIOINFORMÁTICA APLICADA A SELEÇÃO DE COMPOSTOS DERIVADOS DO TEMEFÓS COM POTENCIAL AÇÃO INSETICIDA CONTRA O AEDES AEGYPTI (DIPTERA: CULICIDAE)

Isabella M. C. Brito^{1,2}; Romeu D. Ferreira¹; Cleydson B. R. Santos^{1,2}

1 Laboratório de Modelagem e Química Computacional, Universidade Federal do Amapá (UNIFAP), Rodovia Josmar Chaves Pinto - KM 02, 68903-419, Macapá – Amapá, Brasil.

2 Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas –UNIFAP, Macapá – Amapá, Brasil.

Autor correspondente:isabellabrito499@gmail.com

Palavras-Chave: Arboviroses, Triagem Virtual, Docking Molecular

Introdução

As arboviroses como Dengue, Febre-Amarela, Zika e Chikungunya representam sérios desafios para a saúde pública global, afetando principalmente populações de regiões tropicais e subtropicais. O principal vetor dessas doenças é o mosquito *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762; Diptera: Culicidae), popularmente conhecido como mosquito-da-dengue. Está espécie é essencialmente urbana e sinantrópica, se adaptando com grande facilidade aos centros urbanos devido à abundância de criadouros artificiais com água parada, o que potencializa as taxas de transmissão viral em grandes populações (DUTRA et al., 2024).

No Brasil, o *A. aegypti* é responsável por milhares de casos anuais de dengue e a principal estratégia para o combate desta doença, envolve a eliminação do vetor (LEONG et al., 2019). Essa abordagem inclui: campanhas de conscientização, fortalecimento da vigilância epidemiológica e entomológica, detecção precoce de surtos e divulgação de informações em escolas e mídias. Mais recentemente, o desenvolvimento de vacinas contra a dengue surgiu como uma nova frente de proteção, complementando as estratégias já existentes no controle da doença. No entanto, o controle químico por meio de inseticidas, é o método mais utilizado para reduzir as populações do vetor (KUMAR et al., 2024).

Dentre os agentes químicos de controle empregados, o Temefós (TF), um composto organofosforado, destaca-se no combate as larvas do *A. aegypti*. Apesar de sua eficácia, o uso prolongado desse inseticida tem levado ao desenvolvimento de resistência nos insetos, além de gerar preocupações quanto à sua toxicidade para humanos e o impacto ambiental gerado. Esses fatores evidenciam a necessidade de desenvolver alternativas mais seguras e eficazes, capazes de controlar o vetor sem os efeitos adversos associados aos inseticidas tradicionais (BRAGA et al., 2007b; COSTA et al., 2019).

Dessa forma, a bioquimioinformática e a triagem virtual (VS) surgem como ferramentas estratégicas e eficazes para a identificação racional de novos compostos bioativos. Essa abordagem *in silico* permite o planejamento e a triagem de moléculas com potencial atividade inseticida a partir de grandes bancos de dados, sem a necessidade de



síntese física imediata, reduzindo custos operacionais, consumo de reagentes e tempo de pesquisa. Diante disso, este trabalho teve como objetivo geral identificar compostos bioativos derivados do Temefós com potencial ação inseticida para o controle do *Aedes aegypti*. Para tanto, utilizou-se uma triagem virtual hierárquica baseada em ligantes do banco ChemBridge DIVERSet-Exp e em alvos biológicos críticos para o metabolismo do inseto, especificamente as enzimas Acetilcolinesterase (AChE) humana e de *Drosophila melanogaster*, além do Hormônio Juvenil (JH) do vetor, buscando obter alternativas larvicidas de alta eficácia e com baixo perfil de toxicidade para mamíferos e o meio ambiente.

Material e Métodos

O presente estudo *in silico* foi desenvolvido no Laboratório de Modelagem e Química Computacional (LMQC) da Universidade Federal do Amapá. Por não estar disponível em bancos de dados como o *Protein Data Bank* (PDB), o Temefós (Template) teve sua estrutura otimizada por meio do método de mecânica molecular (MM+) para obter uma conformação estável antes da triagem. A biblioteca molecular foi obtida da base de dados comercial ChemBridge DIVERSet-EXP, subcoleção EXPRESS-Pick Stock. Para cada molécula, foram gerados 300 conformeros aplicando o campo de força MMFF94, energia de deformação ≤ 9 kcal/mol e desvio quadrático médio (RMSD) de 0,6 Å para a exclusão de redundâncias, operado em computador com processador Intel Core i7 (2,4 GHz) e Windows 7 Professional.

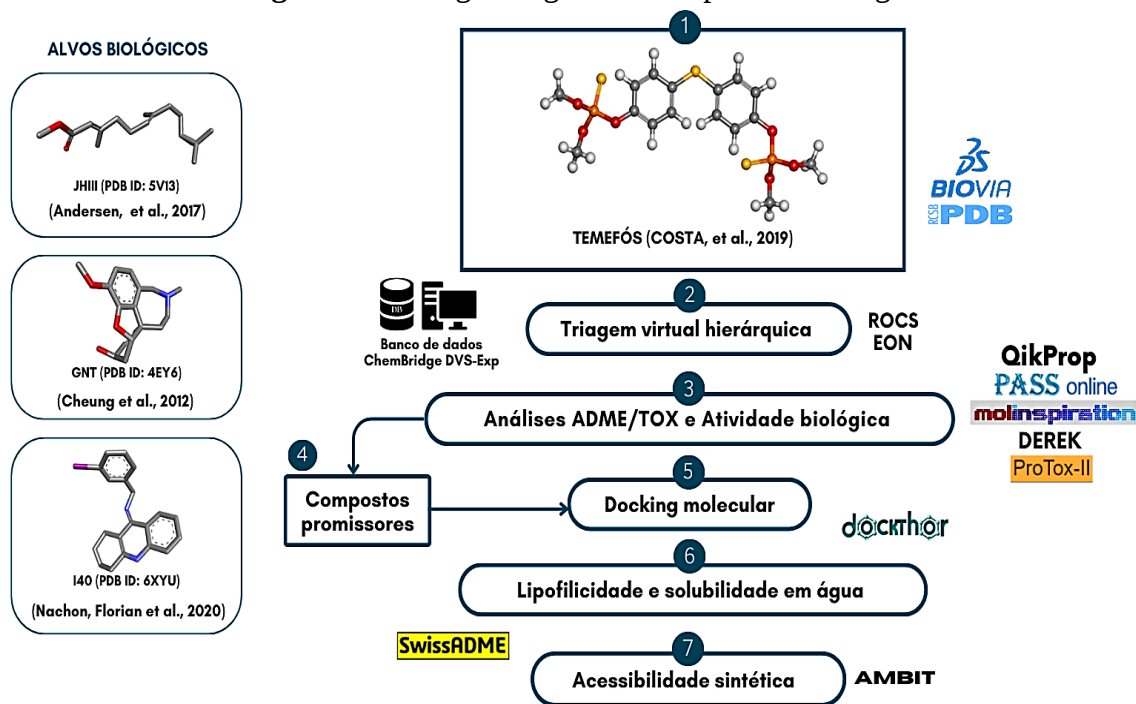
No alinhamento tridimensional, o programa ROCS v2.4.1 maximizou a sobreposição dos ligantes com o TF, empregando o coeficiente de Tanimoto em escala de 0,0 a 1,0. Os compostos com escore superior a 0,7 (Top2000) foram submetidos ao EON para cálculo de correlação eletrostática. A seleção final das 100 melhores moléculas baseou-se na pontuação ET_combo, que soma os coeficientes de Poisson-Boltzmann (ET_pb) e forma Tanimoto (FT).

As macromoléculas e inibidores controle foram obtidos no PDB, sendo a acetilcolinesterase (AChE) de *D. melanogaster* (PDB: 6XYU; 2,7 Å; ligante I40), AChE humana (PDB: 4EY6; 2,4 Å; ligante GNT) e Hormônio Juvenil (PDB: 5V13; 1,87 Å; ligante JHIII). O preparo das estruturas ocorreu no BIOVIA Discovery Studio Visualizer 2021. O docking molecular no servidor DockThor empregou caixas de grade de 20×20×20 pontos. As coordenadas espaciais X, Y e Z do centro da grade focaram a região intermediária do sítio ativo, sendo: 33,22; 67,57; 9,984 para a AChE de *D. melanogaster*; 8,682; -60,47; -24,27 para a AChE humana; e 252,00; 9,143; 352,58 para o Hormônio Juvenil. A validação do método consistiu no *redocking* comparativo dos inibidores cristalográficos.

As propriedades farmacocinéticas foram geradas pelos softwares QikProp e Molinspiration, adotando rigorosamente a Regra dos Cinco de Lipinski (1997) e Tice (2001) ($\log P \leq 5$, $MW \leq 500$, $HBA \leq 10$, $HBD \leq 5$) para confirmar a viabilidade farmacológica. A toxicidade qualitativa foi predita pelo software DEREK, que identifica subestruturas toxicofóricas, enquanto a dose letal (DL50) e a classe toxicológica foram inferidas no servidor Protox II, por meio do Sistema Globalmente Harmonizado (GHS). O servidor PASS filtrou moléculas com atividade inseticida e anticolinesterásica, fornecendo probabilidades de atividade (Pa) e inatividade (Pi) entre 0,000 e 1,000. Por fim, a lipofilicidade (LogP) e a solubilidade aquosa (LogS) foram preditas no SwissADME, empregando conjuntamente os

métodos XLOGP3, WLOGP, MLOGP, iLOGP, ESOL, Ali e SILICOS-IT. A acessibilidade sintética (SA) integrou o modelo AMBIT (0 a 100) e a abordagem fragmentada do SwissADME (10 a 100). A figura 1, apresenta o fluxograma metodológico deste estudo.

Figura 1. Fluxograma geral das etapas metodológicas



Fonte: Autor, 2025

Resultados e Discussão

A triagem via ROCS-EON aplicada sobre a base ChemBridge DIVERSet-EXP permitiu selecionar os 100 compostos mais promissores por complementaridade de forma e propriedades eletrostáticas com o Temefós. Por meio da análise farmacocinética foram identificados 42 candidatos com alta conformidade com as regras de biodisponibilidade oral. No parâmetro STAR, que estima o desvio das propriedades frente a 95% dos fármacos conhecidos, os ligantes denominados LMQC apresentaram valores entre 0 e 1, indicando alta similaridade farmacológica, enquanto o TF (STAR = 6), apresentou múltiplas violações. A massa molecular dos ligantes derivados manteve-se ideal (< 400 g/mol), inferior ao limite de Lipinski (MW ≤ 500 g/mol), sugerindo maior potencial de permeabilidade passiva comparado ao Temefós (466,4 g/mol), apresentados na Tabela 1.

A avaliação qualitativa de toxicidade no DEREK revelou que o Temefós apresenta alertas de inibição irreversível da colinesterase, hepatotoxicidade e sensibilização cutânea, corroborando sua toxicidade em organismos não-alvo. Em contraste, 11 dos 12 compostos selecionados não apresentaram qualquer alerta toxicológico, exceto a molécula LMQC76, que exibiu alerta pontual para sensibilização dérmica devido à presença de um anel fenólico

substituído. No ProTox-II, as moléculas candidatas mostraram-se substancialmente mais seguras que o controle, sendo enquadradas majoritariamente na Classe 4 de toxicidade GHS, com DL50 superiores a 300 mg/kg, destacando-se LMQC63 com 1250 mg/kg e LMQC_77 com 955 mg/kg, e o composto LMQC3_32 na Classe 5 (não tóxico, DL50 = 5000 mg/kg). O Temefós foi classificado na Classe 3 (DL50 = 223 mg/kg), conforme mostra a tabela 1.

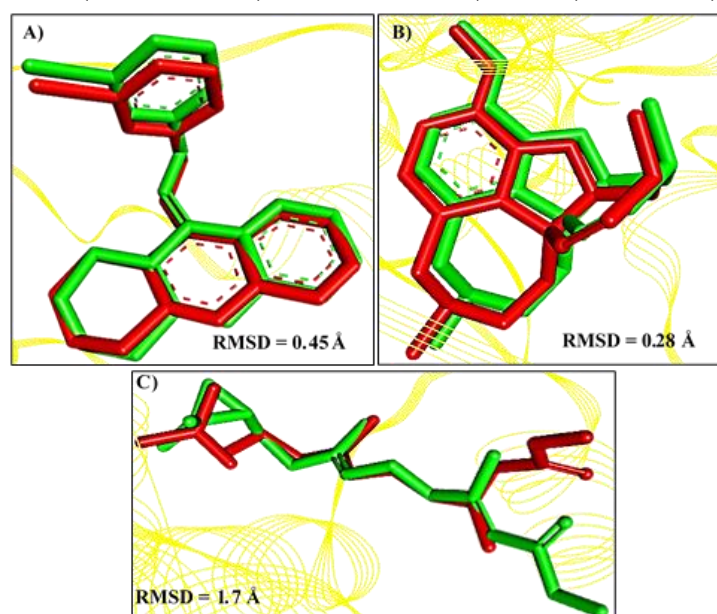
Tabela 1. Propriedades físico-químicas, farmacocinéticas, toxicidade aguda e classe GHS das moléculas promissoras em comparação ao Temefós

COMPOSTOS	MASSA (G/MOL)	QLOGP (QIKPROP)	LOG P (MÉDIA)	LOG S (MÉDIA)	SA AMBIT (%)	DL50 (MG/KG)	CLASSE (PROTOX)
TEMEFÓS	466,4	7,3	4,8	-6,8	79,5	223	Classe 3
LMQC9	338,4	3,9	3,0	-4,5	76,4	500	Classe 4
LMQC76	340,4	4,0	2,8	-4,3	77,1	784	Classe 4
LMQC2_23	348,8	2,8	3,1	-3,9	77,4	550	Classe 4

Fonte: Autor, 2025

No webservidor PASS, as predições indicaram alta probabilidade de atividade inseticida e anticolinesterásica, com destaque para LMQC2_23 (bloqueio neuromuscular, $P_a = 0,408$; inibição da AChE, $P_a = 0,334$), LMQC76 (atividade inseticida, $P_a = 0,119$) e LMQC9 (antagonista colinérgico, $P_a = 0,290$). Já as simulações de docking molecular no Dockthor foram validadas por redocking dos ligantes cristalográficos, obtendo valores de RMSD de 0,45 Å (I40), 0,28 Å (GNT) e 1,7 Å (JHIII) (Figura 2).

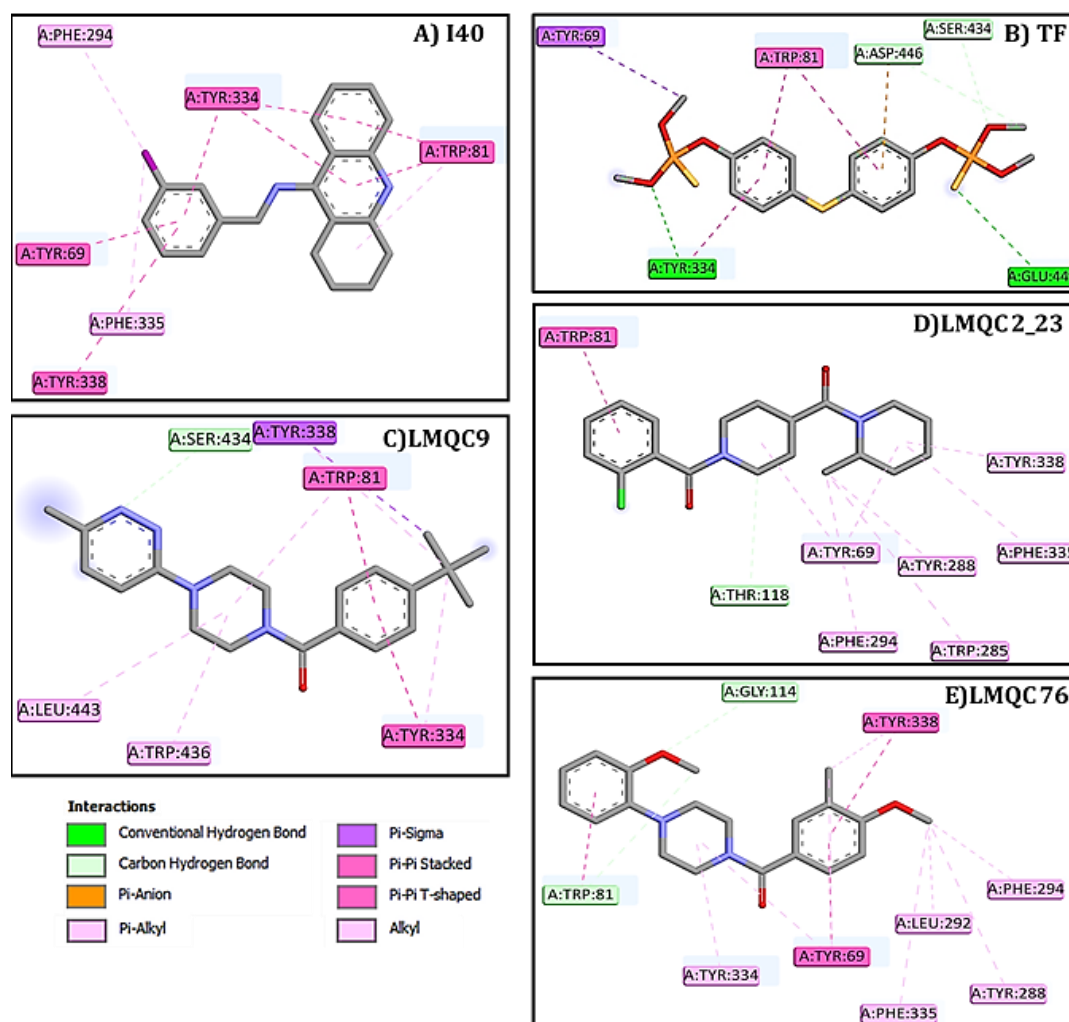
Figura 2. Superposições das poses dos ligantes cristalográficos (em verde) com as poses calculadas (em vermelho) no Dockthor: A) I40, B) GNT e C) JHIII



Fonte: Autor, 2025 (gerado no software Discovery Studio)

Nos testes de afinidade com a AChE de *D. melanogaster* (6XYU), as três moléculas selecionadas superaram a afinidade de ligação do TF, apresentando acréscimos de energia de ligação de 0,10 kcal/mol (LMQC9), 0,30 kcal/mol (LMQC2_23) e 0,40 kcal/mol (LMQC76). O LMQC76 destacou-se por interagir com todos os resíduos de aminoácidos críticos da cavidade ativa envolvidos na ligação com o ligante natural I40 (Tyr69, Tyr334, Tyr338, Trp81, Phe294 e Phe335), sugerindo alta seletividade e potência de inibição (Figura 3).

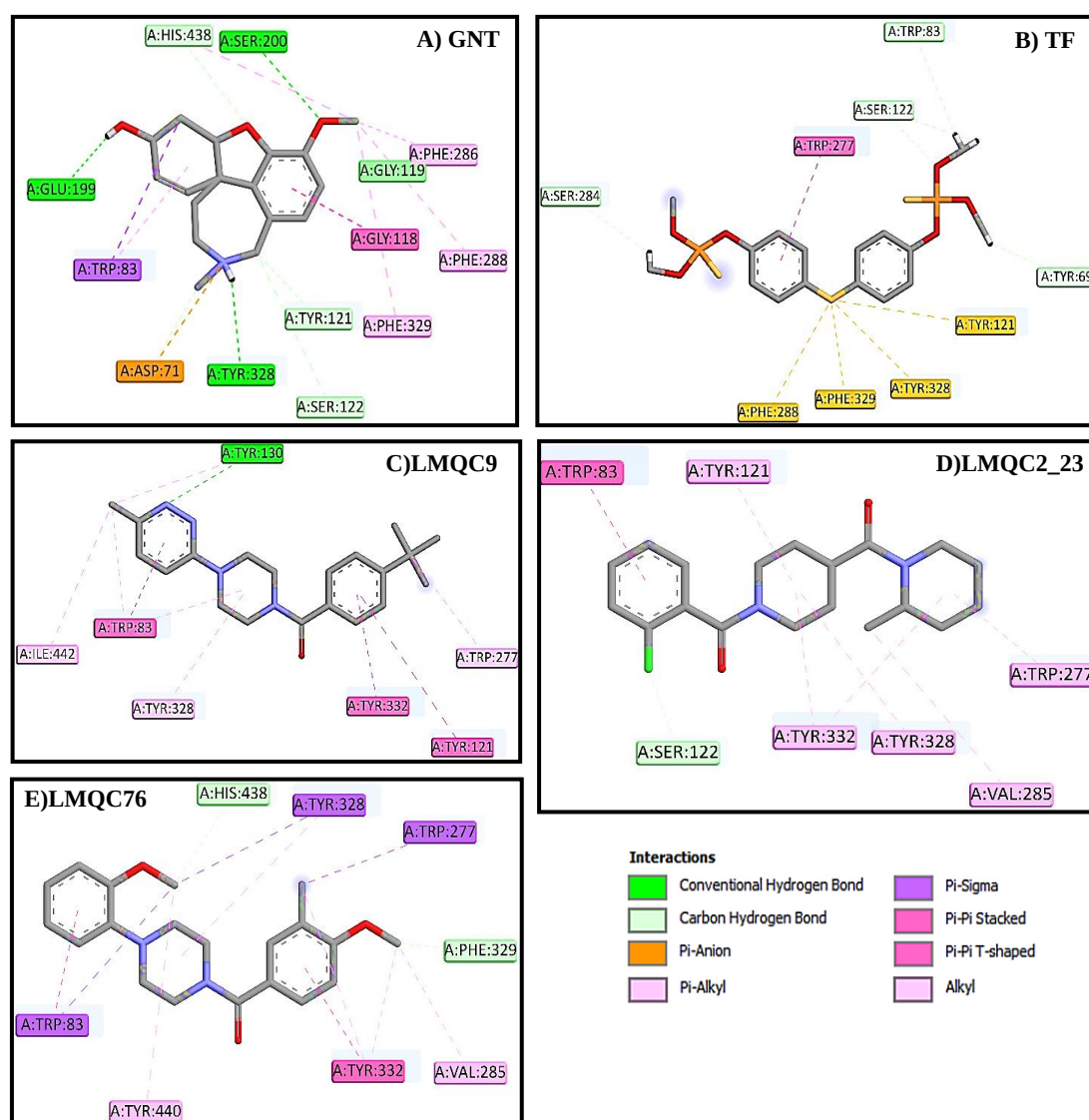
Figura 3. Interações de aminoácidos do sítio ativo da AChE de *D. melanogaster* (6XYU) e os ligantes (A) I40, (B) Temefós, (C) LMQC9, (D) LMQC2_23 e (E) LMQC76



Fonte: Autor, 2025 (gerado no software Discovery Studio)

Por outro lado, frente a AChE humana (4EY6), os compostos LMQC demonstraram menor afinidade de ligação (entre 5,1 e 5,6 kcal/mol) do que o ligante natural GNT (5,9 kcal/mol) e o Temefós (5,8 kcal/mol), além de compartilharem pouca semelhança no padrão de interações com resíduos da AChE humana. Este perfil indica baixa probabilidade de neurotoxicidade colinérgica em mamíferos (Figura 4).

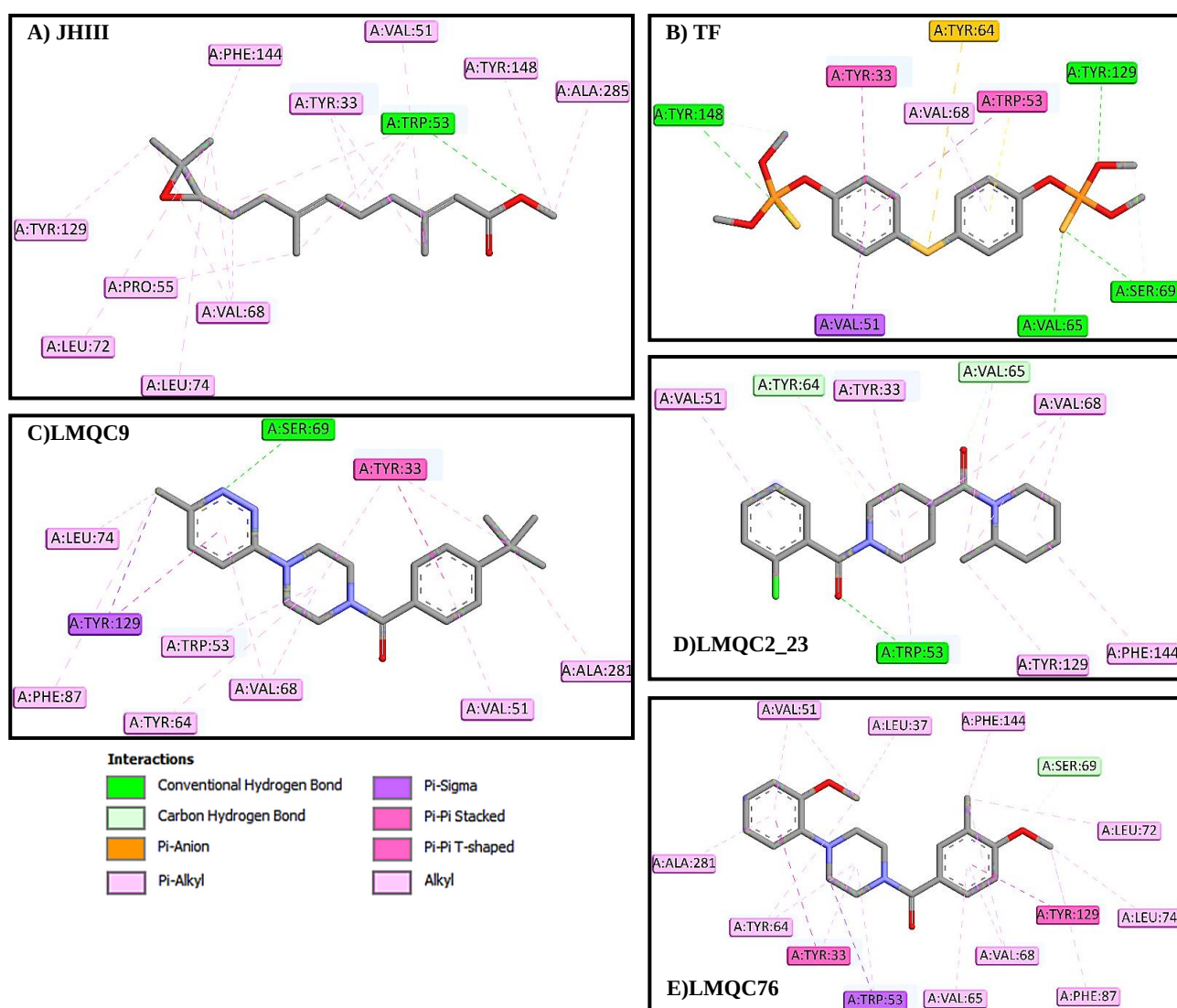
Figura 4. Interações de aminoácidos do sítio ativo da AChE Humana (4EY6) e os ligantes (A) GNT, (B) Temefós, (C) LMQC9, (D) LMQC2_23 e (E) LMQC76



Fonte: Autor, 2025 (gerado no software Discovery Studio)

Em relação ao receptor de hormônio juvenil (5V13), os compostos derivados exibiram afinidades significativamente superiores ao controle e ao ligante natural JHIII. O LMQC2_23 destacou-se com ganho de afinidade de 0,70 kcal/mol em relação ao Temefós e 0,80 kcal/mol em relação ao JHIII, enquanto o LMQC76 compartilhou oito aminoácidos de ligação comuns ao ligante natural (Tyr33, Val51, Trp53, Val68, Leu72, Leu74, Tyr129 e Phe144), como mostra a figura 5.

Figura 5. Interações de aminoácidos do sítio ativo do Hormônio Juvenil (5V13) e os ligantes (A) JHIII, (B) Temefós, (C) LMQC9, (D) LMQC2_23 e (E) LMQC76



Fonte: Autor, 2025 (gerado no software Discovery Studio)

Ademais, as predições de lipofilicidade mostraram valores equilibrados de LogP para os ligantes LMQC (2,8 a 3,1) comparados ao elevado caráter lipofílico do Temefós (4,8), garantindo um bom balanço entre permeabilidade membranar e hidrossolubilidade (Tabela 2). Em termos de solubilidade, apenas o composto LMQC2_23 apresentou boa solubilidade em água nos três métodos estimativos (LogS médio = -3,9) (Tabela 3). Por fim, a predição de acessibilidade sintética indicou que os três compostos são de fácil síntese, com pontuações no servidor AMBIT superiores a 76% (comparáveis aos 79,5% do Temefós) e valores de SA no SwissADME entre 2,3% e 2,7%, validando a viabilidade de estudos experimentais (Figura 6).

Tabela 2. Predição de Lipofilicidade (LogPo/w) via webserver SwissADME

COMPOSTOS	iLOGP	XLOGP	WLOGP	MLOGP	SILICOS-IT	MÉDIA
TEMEFÓS	3.8	5.9	6.9	2.0	5.3	4.8
LMQC2_23	3.2	3.2	2.8	3.1	3.1	3.1
LMQC9	3.4	3.3	2.2	2.9	3.1	3.0
LMQC76	3.4	3.2	2.2	2.3	3.0	2.8

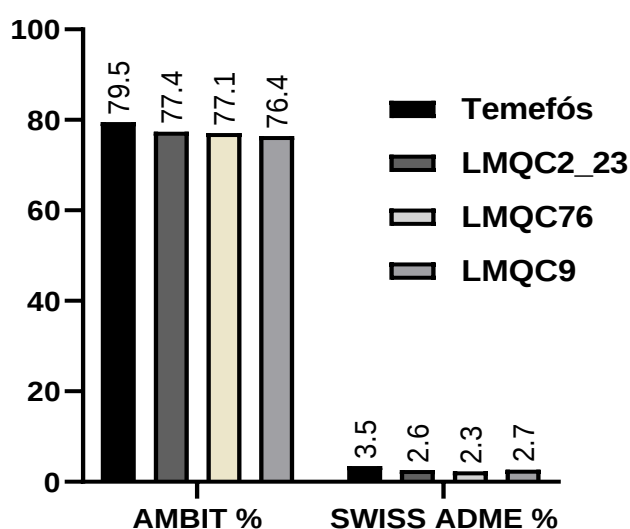
Fonte: Autor, 2026

Tabela 3. Predição de solubilidade (LogS) em água via webserver SwissADME

COMPOSTOS	ESOL	Ali	SILICOS-IT	MÉDIA
TEMEFÓS	-6.1	-9.1	-5.3	-6.8
LMQC2_23	-4.1	-4.01	-5.4	-4.5
LMQC9	-4.04	-3.8	-5.2	-4.3
LMQC76	-3.9	-3.7	-4.2	-3.9

Fonte: Autor, 2026.

Figura 6. Acessibilidade Sintética (SA) dos compostos promissores e do composto controle nos servidores Swiss ADME e AMBIT



Fonte: Autor, 2026 (gerado no software PRISM)



Conclusões

O presente estudo evidenciou a importância da bioquimioinformática como uma estratégia eficiente no planejamento racional de potenciais agentes inseticidas contra o *Aedes aegypti*. Por meio da triagem virtual, foi possível identificar que os compostos LMQC9, LMQC2_23 e LMQC76 possuem perfis farmacocinéticos adequados e cumprem as Regras de Lipinski e Tice, bem como tem menor toxicidade predita em comparação ao composto template Temefós.

As análises de docking molecular revelaram que essas moléculas interagem de maneira específica com alvos biológicos essenciais para o vetor, superando a afinidade do Temefós na acetilcolinesterase de *Drosophila melanogaster* e no receptor do hormônio juvenil, ao mesmo tempo em que exibem baixa afinidade pela AChE humana, o que minimiza potenciais efeitos neurotóxicos colaterais em mamíferos. Ademais os compostos apresentam acessibilidade sintética favorável, de modo que são alternativas viáveis para futuras validações experimentais *in vivo*, visando ao desenvolvimento de formulações inseticidas.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo suporte e fomento à pesquisa e ao Prof. Dr. Cleydson Breno Rodrigues dos Santos por sua valiosa orientação científica ao longo deste projeto.

Referências

- ANDERSEN, J.F. et al. A mosquito hemolymph odorant-binding protein family member specifically binds juvenile hormone. **Journal of Biological Chemistry**, v.292, n.37, p.15329–15339, 2017.
- BRAGA, I. A.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: vigilância, monitoramento da resistência e alternativas de controle no Brasil. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v.16, n.4, p. 295-302, 2007b.
- CHEUNG, Jonah et al. Structures of Human Acetylcholinesterase in Complex with Pharmacologically Important Ligands. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 55, n. 22, p. 10282–10286, 26 nov. 2012.
- COSTA, G. V. et al. Hierarchical Virtual Screening of Potential Insecticides Inhibitors of Acetylcholinesterase and Juvenile Hormone from Temephos. **Pharmaceuticals**, v.12, n.2, p.6, 2019.
- DUTRA, H. L. C. et al. Larval crowding enhances dengue virus loads in *Aedes aegypti*, a relationship that might increase transmission in urban environments. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v.18, n.9, p. e0012482, 2024.
- KUMAR, G. et al. Addressing challenges in vector control: a review of current strategies and the imperative for novel tools in India's combat against vector-borne diseases. **BMJ Public Health**, v.2, e000342, 2024.
- LEONG, C. S. et al. Enzymatic and molecular characterization of insecticide resistance mechanisms in field populations of *Aedes aegypti* from Selangor, Malaysia. **Parasites & Vectors**, v.12, n.1, p.1-17, 2019.
- LIPINSKI, C. A. et al. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v.46, n.1-3, p.3-26, 1997.
- NACHON, F. et al. A second look at the crystal structures of *Drosophila melanogaster* acetylcholinesterase in complex with tacrine derivatives provides insights concerning catalytic intermediates and the design of specific insecticides. **Molecules**, v.25, n.5, p.1198, 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.