

## ANÁLISE IN SILICO DE POTENCIAIS ANTIFÚNGICO CONTRA COLLETOTRICHUM GLOEOSPORIOIDES

Eduardo B. Alves<sup>1</sup>; Elaine S. Conceição<sup>1</sup>; Valéria V. M. Paixão<sup>1</sup>; Joyce T. da C. dos Santos<sup>1</sup>; Yria J. A. Santos<sup>1</sup>; Tiago B. Oliveira<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Sergipe, Programa de Pós-Graduação em Química, UFS, Aracaju, Sergipe, Brasil

**Palavras-Chave:** Antracnose, Modelo QSAR, Triagem virtual.

### Introdução

A descoberta de novos produtos antifúngicos é essencial para os sistemas de produção de alimentos, que demandam soluções para o controle de doenças causadas por agentes microbianos, os quais causam diversas perdas na produção e, conseqüentemente, perdas econômicas (REGASSA et al., 2018). Uma das doenças de interesse nestes sistemas é a antracnose, cujo agente etiológico é o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* (teleomorfo: *Glomerella cingulata*), que possui alta capacidade de infecção das plantas podendo infectar frutos, folhas, caules em diversas regiões tropicais, subtropicais e temperadas (DEAN et al., 2012). Embora os fungicidas químicos sejam os principais métodos de controle dos agentes microbianos seu uso recorrente pode causar danos ao meio ambiente e à saúde humana, além de favorecer o desenvolvimento de resistência microbiana (AHMAD et al., 2022). Portanto, é necessário desenvolver novos produtos com atividade antifúngica que sejam menos nocivos e biodegradáveis. Visando economizar no desenvolvimento de novos produtos e promover a química verde, com o aumento da eficiência no processo de descoberta de novos produtos químicos (MAHALAKSHMI; JAHNAVI, 2020) a triagem virtual por meio de estudos de QSAR (*Quantitative Structure-Activity Relationship*) podem estabelecer correlações matemáticas entre estruturas químicas e as propriedades biológicas, visando identificar e projetar novas estruturas químicas com as propriedades desejadas (SPIEGEL; SENDEROWITZ, 2021). Desta forma, o objetivo desta pesquisa foi desenvolver um modelo QSAR para a descoberta de novas estruturas com atividade antifúngica contra o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* (Penzig) Penzig & Sacc

### Material e Métodos

Através da busca na literatura científica foram selecionados estudos com substâncias puras testadas contra o fungo *C. Gloeosporioidese* sua atividade biológica foi avaliada pela concentração efetiva 50%(EC50), para construir o conjunto de dados. Este conjunto contém informações sobre os valores da atividade biológica (EC50), nome da estrutura química e um número de identificação. O conjunto de dados foi carregado no *software* Knime (v. 4.5.1,

KNIME GmbH, Alemanha) para a remoção de estruturas duplicatas e a conversão da atividade biológica para  $-\log(\text{EC}_{50})$ . Nas estruturas químicas, realizou-se a adição de hidrogênios, a remoção de sais inorgânicos e a geração das coordenadas 3D a partir do software RDKit (RDKit, 2013). Para a otimização final das geometrias utilizou-se o software MOPAC® (Molecular Orbital PACKage) v. 22.0.6 (FUNAR-TIMOFEI; BORA, 2017), e os descritores moleculares foram calculados utilizando o software *AlvaDesc* (v. 2.0, *Alvascience*, Itália). Os descritores calculados foram tratados com a remoção daqueles que apresentaram valores ausentes ou variância constante, foram normalizados, e os descritores com alta correlação de *Pearson* foram removidos (RÁCZ; BAJUSZ; HÉBERGER, 2019). Os dados foram divididos aleatoriamente em treino (80%) e teste (20%). Para a elaboração do modelo, o algoritmo genético foi utilizado para selecionar os 12 descritores mais relevantes, e o modelo de QSAR foi construído com o uso do algoritmo de regressão PACE (*Projection Adjustment by Contribution Estimation*) (RP) (WANG; WITTEN; COMPUTER SCIENCE, 1999). O modelo desenvolvido foi validado utilizando as seguintes métricas:

$$Q^2 > 0,5; R^2 > 0,6; P^2 > 0,6;$$
$$RMSE = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (Y_{exp} - \hat{Y}_{pred})^2}; MAE = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N |Y_{exp} - \hat{Y}_{pred}|$$

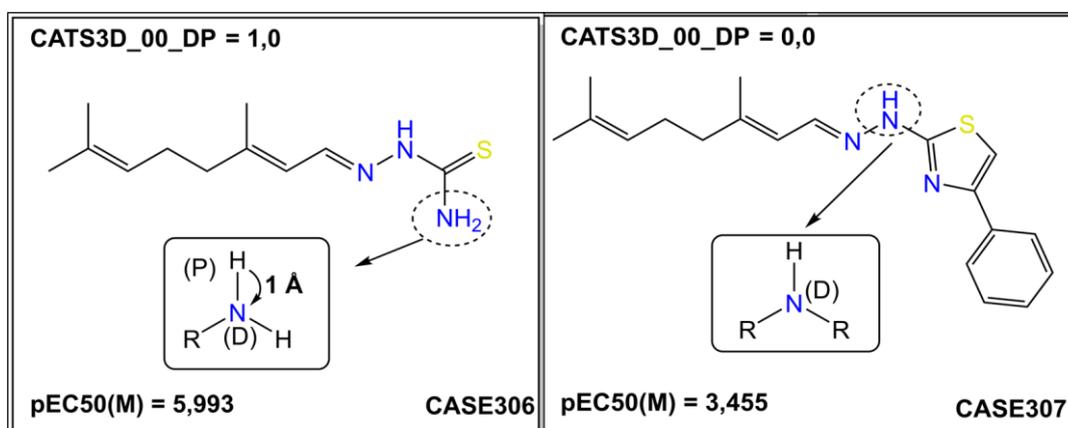
A seleção de descritores que apresentou as métricas satisfatórias passou pelo teste de randomização Y para estabelecer que o modelo desenvolvido não é fruto do acaso. A triagem virtual ocorreu no banco de dados do site *Natural Product Activity and Species Source* (NPASS) que foi submetido à mesma metodologia de tratamento que as estruturas do conjunto de treinamento do modelo QSAR, e pelo filtro de domínio de aplicabilidade para garantir a confiabilidade das previsões do modelo (ZHAO et al., 2023).

## Resultados e Discussão

O modelo QSAR foi desenvolvido com os 12 descritores selecionados pelo algoritmo genético (GA) utilizando a RP para a construção do modelo dos conjuntos de treino e teste. As métricas de desempenho do modelo foram:  $R^2 = 0,750$ ,  $MAE = 0,238$ ,  $RMSE = 0,329$  (conjunto treino);  $Q^2 = 0,706$ ,  $MAE = 0,259$ ,  $RMSE = 0,356$  (validação cruzada); e  $P^2 = 0,717$ ,  $MAE = 0,231$ ,  $RMSE = 0,320$  (conjunto de teste externo). O modelo apresentou boa capacidade preditiva, com métricas superiores aos valores de referência. A pequena diferença entre  $R^2$  e  $Q^2$  sugere baixa probabilidade de overfitting (ERIKSSON et al., 2003). A robustez do modelo foi avaliada por meio de um teste de randomização Y com 100 iterações. As métricas obtidas após a randomização foram significativamente inferiores ( $R^2 = 0,077$ ;  $Q^2 = -0,123$ ), confirmando a

significância estatística do modelo e a ausência de correlação aleatória (ABDULLAHI; SHALLANGWA; UZAIRU, 2020). A análise dos descritores moleculares revelou que o CATS3D\_00\_DP, representando um par de átomos doador-positivo a curta distância, contribui positivamente para a atividade antifúngica (pEC50). O CATS3D\_00\_DP representa um par de átomos doador-positivo com distâncias BINS 00, que captura informações de pontos de farmacóforos potenciais de doador de ligação hidrogênio (D) e carregado positivamente ou ionizável (P) (FECHNER et al., 2003). Na **Figura 1** ilustra como a presença de um grupo amino, atuando como doador de ligação de hidrogênio, aumenta a atividade e a ausência do grupo amino diminui significativamente a atividade.

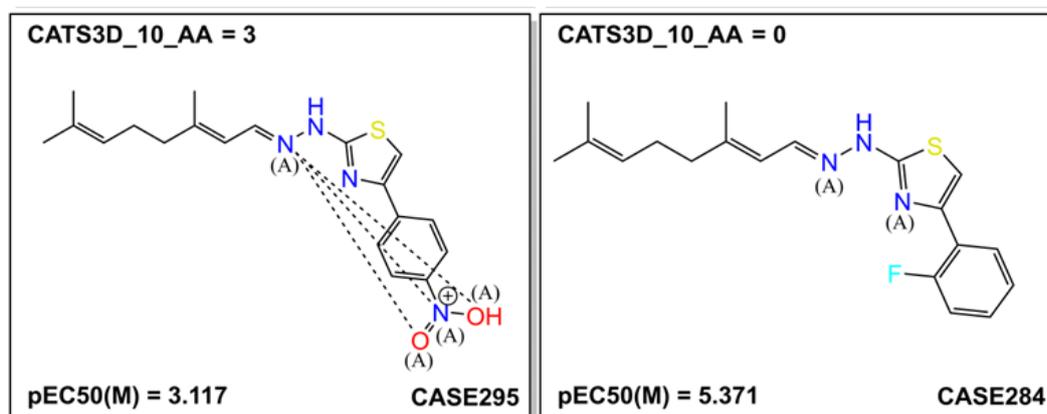
**Figura 1:** Valores do descritor CATS3D\_00\_DP para duas estruturas do banco de treino



Fonte: Aurores 2024

Em contrapartida, o descritor CATS3D\_10\_AA, que representa um par de átomos aceitadores de ligação hidrogênio a uma distância de 10-11 Å, está associado a uma diminuição da atividade, como ilustrado na **Figura 2**. Desta forma, a presença de pares de átomos aceitadores de ligações hidrogênio (A), em distâncias específicas influencia diretamente a atividade pEC50(M) das estruturas químicas.

**Figura 2:** Valores do descritor CATS3D\_10\_AA para duas estruturas do banco de treino



Fonte: Autores, 2024

Em suma, os descritores revelaram características estruturais importantes para a atividade antifúngica, como a presença de grupos doadores de ligação de hidrogênio, grupos com carga positiva, amidas e imidazóis. Além de propriedades geométricas e eletrônicas específicas que desempenham um papel importante na influência da atividade pEC50(M), facilitando interações favoráveis com o alvo biológico.

A triagem virtual no banco de dados NPASS, utilizando o modelo QSAR e o filtro de domínio de aplicabilidade, identificou duas estruturas promissoras com potencial atividade antifúngica contra *C. gloeosporioides*. As estruturas identificadas foram a Clavatadine D (NPC243106), isolada da esponja marinha *Suberea clavata* (BUCHANAN et al., 2009) e a Opacaline B (NPC108011), isolada do *Pseudodistoma opacum* (CHAN et al., 2011). Desta forma, a validação experimental dessas moléculas ainda se faz necessária para confirmar sua atividade antifúngica contra *C. gloeosporioides*.

## Conclusões

O fungo *C. gloeosporioides* é um importante fitopatógeno que causa perdas em diversos sistemas de produção de alimentos, evidenciando a necessidade de novos métodos de controle. O modelo QSAR desenvolvido, baseado em descritores moleculares, permitiu identificar características estruturais chave para a atividade antifúngica, como a presença de grupos doadores de ligação de hidrogênio, grupos carregados positivamente, amidas e imidazóis, além de propriedades geométricas e eletrônicas específicas. A triagem virtual identificou duas estruturas promissoras, Clavatadine D e Opacaline B, que necessitam de validação experimental para confirmar sua eficácia contra *C. gloeosporioides*.

## Agradecimentos

Os autores do trabalho agradecem a Universidade Federal de Sergipe (UFS), ao PPGQ – UFS, ao grupo de pesquisa CASE/UFS a CAPES, pela oportunidade e apoio financeiro

## Referências

ABDULLAHI, M.; SHALLANGWA, G. A.; UZAIRU, A. In silico QSAR and molecular docking simulation of some novel aryl sulfonamide derivatives as inhibitors of H5N1 influenza A virus subtype. **Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 9, n. 1, p. 1–12, dez. 2020.

AHMAD, A. et al. Decontamination of seed borne disease in pepper (*Capsicum annum* L.) seed and the enhancement of seed quality by the emulated plasma technology. **Scientia Horticulturae**, v. 291, p. 110568–110568, jan. 2022.



BUCHANAN, M. S. et al. Clavatadines C–E, Guanidine Alkaloids from the Australian Sponge *Suberea clavata*. **Journal of Natural Products**, v. 72, n. 5, p. 973–975, 22 maio 2009.

CHAN, S. T. S. et al. Antimalarial  $\beta$ -Carbolines from the New Zealand Ascidian *Pseudodistoma opacum*. **Journal of Natural Products**, v. 74, n. 9, p. 1972–1979, 23 set. 2011.

DEAN, R. et al. The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, v. 13, n. 4, p. 414–414, maio 2012.

ERIKSSON, L. et al. Methods for reliability and uncertainty assessment and for applicability evaluations of classification- and regression-based QSARs. **Environmental Health Perspectives**, v. 111, n. 10, p. 1361–1361, ago. 2003.

FECHNER, U. et al. Comparison of correlation vector methods for ligand-based similarity searching. **Journal of Computer-Aided Molecular Design**, v. 17, n. 10, p. 687–698, 1 out. 2003.

FUNAR-TIMOFEI, S.; BORA, A. QSAR Study of Neonicotinoid Insecticidal Activity Against Cowpea Aphids. p. 21–21, 2017.

MAHALAKSHMI, P. S.; JAHNAVI, Y. A REVIEW ON QSAR STUDIES. **International Journal of Advances in Pharmacy and Biotechnology**, v. 6, n. 2, p. 19–23, jun. 2020.

RÁCZ, A.; BAJUSZ, D.; HÉBERGER, K. Intercorrelation Limits in Molecular Descriptor Preselection for QSAR/QSPR. **Molecular Informatics**, v. 38, n. 8–9, p. 1800154–1800154, ago. 2019.

RDKit. RDKit. **RDKit: Cheminformatics de Código Aberto**, 2013.

REGASSA, A. B. et al. Supplementing biocontrol efficacy of *Bacillus velezensis* against *Glomerella cingulata*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 102, p. 173–179, abr. 2018.

SPIEGEL, J.; SENDEROWITZ, H. A Comparison between Enrichment Optimization Algorithm (EOA)-Based and Docking-Based Virtual Screening. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 1, p. 43–43, dez. 2021.

WANG, Y.; WITTEN, I. H.; COMPUTER SCIENCE, U. OF W. **Pace Regression: Computer Science Working Papers**. Hamilton: Computer Science, University of Waikato, 1999. Disponível em: <<https://hdl.handle.net/10289/1041>>.

ZHAO, H. et al. NPASS database update 2023: quantitative natural product activity and species source database for biomedical research. **Nucleic Acids Research**, v. 51, n. D1, p. D621–D628, 6 jan. 2023.