

ESTUDO IN SILICO DO FÁRMACO ANTI- LEISHMANIOSE MILTEFOSINA

Samara Sampaio Carneiro (1); Márcia Machado Marinho (2); Emmanuel Silva Marinho (3)

1-Universidade Estadual do Ceará, samara.carneiro@aluno.uece.br;2-Universidade Federal do Ceará, marinho.marcia@gmail.com;3-Universidade Estadual do Ceará, emmanuel.marinho@uece.br.

Resumo do artigo: A leishmaniose é uma doença infecciosa e não contagiosa causada por protozoários do gênero *Leishmani*, transmitida por meio de vetores infectados. Atualmente, a mesma é considerada um caso de saúde em pelo menos 88 países por conta do alto índice de mortalidade. Embora seja uma doença benigna, encontram-se relatos de óbitos em virtude da doença ou toxicidade dos medicamentos empregados para o uso do seu tratamento. A miltefosina é um medicamento de uso oral e eficaz em relação a outros fármacos utilizados no tratamento da Leishmaniose tegumentar (LT), embora apresente algumas reações adversas como vômitos, diarreia, dor de cabeça, dor abdominal, tonturas, sonolência e níveis elevados de enzimas hepáticas. Nesse contexto o presente estudo teve como objetivo utilizar o método quântico semi-empírico *Parametric Method 3* para caracterizar estruturalmente o fármaco miltefosina, como etapa inicial de *Drug Design*. Para realizar a caracterização, foram realizadas técnicas de modelagem molecular, utilizando o software Arguslab®, configurado para atuar com base no método quântico (QM) e semi-empírico Hamiltoniano *Parametric Method 3* (QM-PM3)(NDDO), usando a aproximação Hartree-Fock (HF-SCF) *closed shell* (RHF-Hartree-Fock), configurada para 500 interações (1000 ciclos), com valor de convergência de 10^{-10} kcal mol⁻¹ utilizando conjuntos de funções de base STO-6G, sendo obtido a estrutura conformacional otimizada (dimensões moleculares de comprimentos, ângulos de ligação, coordenadas cartesianas) e a análise das cargas de Mulliken. Obtendo com a otimização uma energia de campo (SFC) na ordem de -10739,2628 Kcal mol⁻¹ e calor de formação de -191,3698 Kcal mol⁻¹. Com relação as cargas de Mulliken, foi possível observar variações de cargas, nos átomos de carbono (-0,4652 a 0,0191), oxigênio (-0,8909 a -0,5851), nitrogênio (0,5294) e fósforo (2,0403), possibilitando identificar nos átomos de carbono (C2), oxigênio (O23), (O24), (O25) e (O26) como sendo as regiões nucleofílicas, e átomos de carbono (C21), nitrogênio (N22) e fósforo (P27) a região eletrofílica. Os resultados obtidos neste trabalho representam uma etapa fundamental para o desenvolvimento de novos fármacos (análogos) mais eficientes (*Drug Design*).

Palavras-chave: *Drug Design*, Mulliken, Hartree-Fock, *Parametric Method 3*.

INTRODUÇÃO

A leishmaniose é uma doença infecciosa, não contagiosa, originário por várias espécies de protozoários do gênero *leishmania*, transmitida por meio de vetores flebotomíneos infectados, que se penetram e multiplica-se dentro das células que fazem parte do sistema de defesa do indivíduo, chamadas de macrófagos (MATHIAS & LIMA 2013). A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que 350 milhões de pessoas estejam expostas ao risco, a incidência mundial de leishmaniose é de aproximadamente dois milhões de novos casos da leishmaniose tegumentar (LT) das diferentes formas clínicas ao ano. Esta doença tornou-se um caso de saúde pública em pelo menos 85 países por conta do alto índice de mortalidade

(ALVARENGA, 2010).

Segundo o Ministério da Saúde (2016), a LT é dividida nas seguintes formas clínicas: cutânea e mucosa, sendo a forma cutânea responsável por mais de 90% dos casos. Embora seja uma doença benigna, encontram-se descrições de óbitos em virtude da doença ou toxicidade dos medicamentos empregados para o uso do seu tratamento (GOMES et al., 2006). Em 2014 a Agência americana FDA (*Food And Administration*) aprovou o fármaco Impávido®, (miltefosina), sendo este indicado no tratamento de qualquer tipo de Leishmaniose cutânea ou visceral (Santos, et al., 2015). A miltefosina foi desenvolvida no final da década de 80 como um fármaco para o tratamento de câncer, mas tarde, através de estudos realizados na Índia, descobriu-se a eficácia terapêutica no tratamento das leishmanioses (CAMPOS, 2008).

De acordo com o histórico de aprovação do FDA, o fármaco impávido® é o primeiro medicamento a ser administrado oralmente, embora apresente algumas reações adversas como vômitos, diarreia, dor de cabeça, dor abdominal, tonturas, sonolência e níveis elevados de enzimas hepáticas. Este medicamento é administrado por via oral durante 28 dias com uma dose preconizada para adultos de 2,5 mg/kg/dia a 150 mg, devendo ser ingerido junto com alimentos para minimizar a irritação gástrica. Estudos realizados pelo Ministério da Saúde (2016) com relação á literatura científica, adverte que miltefosina apresenta um bom resultado terapêutico e um melhor perfil de eventos adversos em relação a os outros medicamentos utilizados no tratamento LT, apresentando pontos positivos por ser um medicamento de uso oral, com um melhor perfil de aprovação ao tratamento.

Nos últimos anos, com o crescimento das indústrias farmacêuticas, grandes companhias vêm se preocupando com os fatores encontrados em relação aos elevados custos de tempo e dinheiro na pesquisa e desenvolvimento de fármacos com maior eficácia terapêutica (BARBOSA, 2016). Sendo assim, para a redução de tempo e custo, os avanços tecnológicos na área científica vem apresentando inovações com a utilização de ferramentas de pesquisa, estabelecendo conhecimentos de informática e biotecnologia no estudo e planejamento de novos fármacos (MAGALHÃES, 2009). De acordo com a IUPAC, a modelagem molecular consiste no estudo das estruturas e das características moleculares por meio do uso da química computacional e métodos de visualização gráfica, permitindo uma representação tridimensional sob a estrutura em diversos aspectos, (CARVALHO et al.,2003). Assim, a modelagem molecular tem como finalidade fundamental apresentar o comportamento

existente (experimental) de moléculas e sistemas moleculares, aumentando as chances de descobrir fármacos mais eficazes (REBOREDO, 2012).

Posto que, a química computacional é capaz de apresentar resultados possivelmente confiáveis sobre a geometria molecular e outras propriedades, a qual é derivada de abordagem teórica, obtida através da metodologia mecânico-quântica (LEAL et al., 2010). Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo utilizar o método quântico semi-empírico *Parametric Method 3* para caracterizar estruturalmente o fármaco miltefosina, sendo esta, uma etapa fundamental no desenvolvimento de análogos, visando uma melhor otimização estrutural deste medicamento (Drug Design).

METODOLOGIA

O presente estudo foi desenvolvido *in silico*, utilizando a metodologia proposta por Dewaer e colaboradores (1985). Na primeira etapa obteve-se a estrutura molecular da miltefosina, no repositório Drugbank® (<http://www.drugbank.ca/>) e algumas de suas propriedades específicas disponíveis. Após esta etapa, desenvolveu-se a otimização molecular com o auxílio do software gratuito ArgusLab®(THOMPSON, 2004) configurado cálculos através do método semi-empírico PM3 (*Parametric Method 3*), com base na mecânica quântica, utilizando-se aproximação de Hartree-Fock SFC, com um número máximo de 500 interações, no qual obteve-se a minimização de energia e otimização de geometria, as dimensões moleculares de comprimento e ângulos de ligação, as coordenadas cartesianas (*em Angstroms*) e a análise populacional de Mulliken.

RESULTADOS E DISCURSSÃO

A visualização bidimensional (figura 1) e download da estrutura foi obtida no repositório DrugBank®, sendo este um banco de dados de acesso gratuito de pesquisa, o mesmo é um recurso de bioinformática que estabelece informações detalhados a respeito de substâncias, isto é, químicas, farmacológicas e farmacêuticos. Observando a Tabela 1, podemos destacar os indicadores de solubilidades (acima de 1), que indicam a alta Lipofilicidade da molécula, bem como o número de átomo aceptores de ligação de Hidrogênio (2), indicando a possibilidade de realização de duas ligações de Hidrogênio.

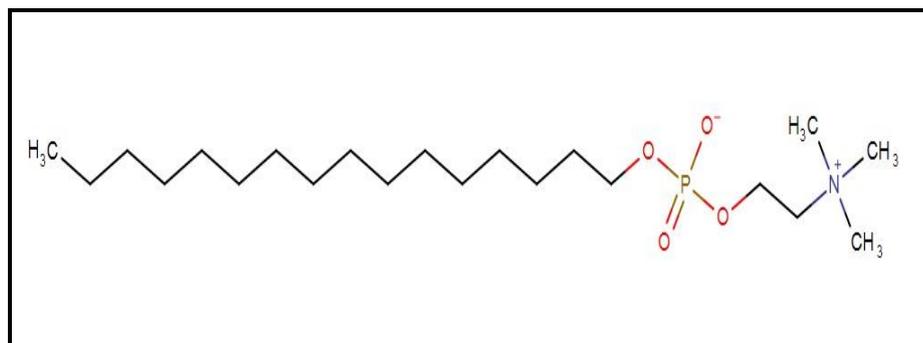


Figura 1: Estrutura bidimensional da miltefosina

Fonte: Repositório DrugBank® (<https://www.drugbank.ca/drugs/DB09031>)

Tabela 1. Propriedades físico-químicas do fármaco miltefosina.

Propriedades	Valor
Solubilidade em água	0,00022mg mL ⁻¹
logP	2,68
logP	2,25
logS	-6,3
pKa (ácido)	1,88
Carga fisiológica	0
Número de aceptores de hidrogênio	2
Número de doadores de hidrogênio	0
Área de superfície polar	58,59 Å ²
Refratividade	125,51 m ³ mol ⁻¹
Polarizabilidade	50,58 Å ³

Fonte: Repositório DrugBank® (<https://www.drugbank.ca/drugs/DB09031>)

Para iniciar a modelagem molecular, utiliza-se a técnica de minimização de energia (Namba et al., 2008), uma técnica que visa localizar um conjunto de coordenadas que minimizam a energia potencial do sistema, corrigindo a formação desfavorável em comprimentos e ângulos de ligações e ângulos diédricos, entretanto, utiliza-se os processos de minimização de energia, conhecido também como otimização de geometria, para corrigir estas distorções (CARVALHO et al., 2003). Neste contexto, os cálculos foram realizados com base na mecânica-quântica utilizando-se o método semi-empírico *Parametric Method 3* (PM3),

(NDDO), usando a aproximação Hartree-Fock (HF-SCF) *open shell* (UHF-Unrestricted Hartree-Fock) (SILVA., et al., 2017, ARROIO et al., 2010). Com estes parâmetros determinou-se a otimização de geometria, através do método de interações SFC -10739,2628 Kcal mol⁻¹ e calor de formação no valor de -191,3698 Kcal mol⁻¹(Figura 2).

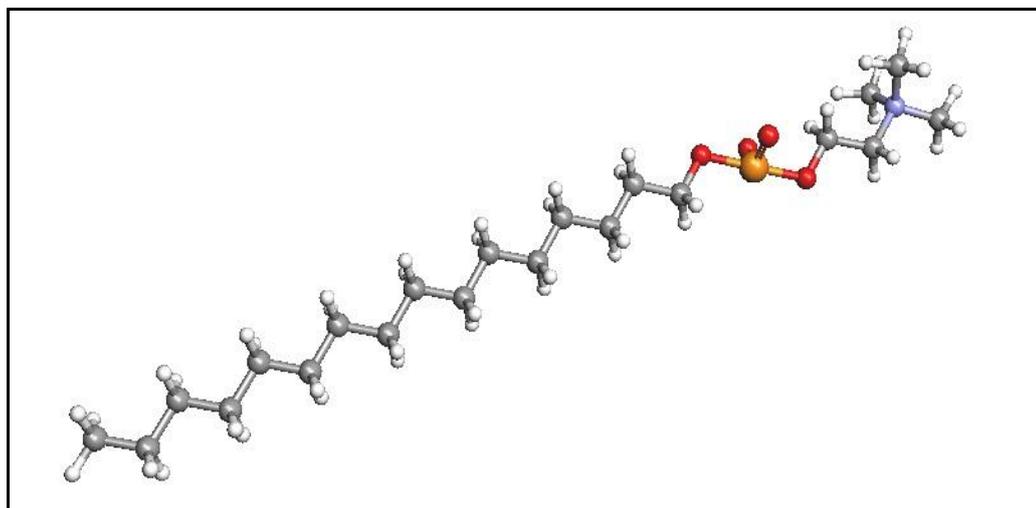


Figura 2. Estrutura otimizada do fármaco miltefosina.

O software ArgusLab®, também fornece propriedades da estrutura em 3D, apresentando as dimensões moleculares relativas ao comprimento e ângulo de ligação, que podem ser obtidas, na forma de tabelas em uma janela, usadas no estudo de análise conformacional e comparação entre compostos análogos (Carvalho et al., 2003). Após os cálculos de otimização foi possível obter os descritores conformacionais que caracterizam a molécula da miltefosina (comprimentos e ângulos de ligação (Tabela 2), e as Coordenadas cartesianas (Tabela 3).

Tabela 2. Medidas de comprimento e ângulo de ligação do fármaco miltefosina.

Comprimento de ligação (Å)		Ângulos de ligação (Å)	
C(1)-C(5)	1,5140	C(1)-C(5)-C(6)	109,470
C(2)-N(22)	1,4629	C(2)-N(22)-C(3)	106,700
C(3)-N(22)	1,4629	C(3)-N(22)-C(4)	106,700
C(4)-N(22)	1,4629	C(3)-N(22)-C(19)	106,700
C(5)-C(6)	1,5140	C(4)-N(22)-C(19)	106,700
C(6)-C(7)	1,5140	C(5)-C(6)-C(7)	109,470

C(7)-C(8)	1,5140	C(6)-C(7)-C(8)	109,470
C(8)-C(9)	1,5140	C(7)-C(8)-C(9)	109,470
C(9)-C(10)	1,5140	C(8)-C(9)-C(10)	109,470
C(10)-C(11)	1,5140	C(9)-C(10)-C(11)	109,470
C(11)-C(12)	1,5140	C(10)-C(11)-C(12)	109,470
C(12)-C(13)	1,5140	C(11)-C(12)-C(13)	109,470
C(13)-C(14)	1,5140	C(12)-C(13)-C(14)	109,470
C(14)-C(15)	1,5140	C(14)-C(15)-C(16)	109,470
C(15)-O(16)	1,5140	C(15)-C(16)-C(17)	109,470
C(16)-C(17)	1,5140	C(16)-C(17)-C(18)	109,470
C(17)-C(18)	1,5140	C(17)-C(18)-C(20)	109,470
C(18)-C(20)	1,5140	C(18)-C(20)-O (25)	109,470
C(19)-C(21)	1,5140	C(21)-C(19)-N(22)	109,470
C(19)-N(22)	1,4629	C(19)-C(21)-O (26)	109,470
C(20)-O(25)	1,4361	C(20)-O (25)-P(27)	104,510
C(21)-O(26)	1,4361	C(21)-O (26)-P(27)	104,510
O(23)-P(27)	1,5979		
O(24)-P(27)	1,5979		
O(25)-P(27)	1.7826		
O(26)-P(27)	1.7826		

Tabela 3. Coordenadas cartesianas (em *Angstroms*) para o fármaco miltefosina.

Ordem	Átomos (símbolo e elementos)	Coordenadas Cartesianas (Å)		
		X	Y	Z
1	C	0,929200	-0,00594	-0.00010
2	C	22,83700	-8,46330	12,44210
3	C	22,83900	-10,4290	10,91510
4	C	24,80290	-8,91840	11,00840
5	C	2,448400	-0,01370	0,009600
6	C	2,987900	-0,90800	1,122600
7	C	4,514500	-0,91420	1,133900



JOIN

ENCONTRO INTERNACIONAL DE
JOVENS INVESTIGADORES
EDIÇÃO BRASIL

8	C	5,045000	-1,81000	2,249400
9	C	6,570000	-1,81730	2,264300
10	C	7,092700	-2,71250	3,381900
11	C	8,616200	-2,72480	3,984000
12	C	9,131500	-3,62020	4,517300
13	C	10,65380	-3,63359	4,535900
14	C	11,16240	-4,53270	5,656300
15	C	12,62320	-4,55390	5,672600
16	C	13,19300	-5,45290	6,790700
17	C	14,71280	-5,47700	6,788900
18	C	15,24410	-6,36960	7,898500
19	C	22,71150	-8,10150	9,930770
20	C	16,75670	-6,38700	7,861000
21	C	21,19720	-8,06250	9,928500
22	N	23,29140	-8,98450	11,08210
23	O	18,95020	-6,80280	10,41810
24	O	18,97320	-8,62560	8,444100
25	O	17,23400	-7,71244	8,930506
26	O	20,69440	-7,17240	8,95800
27	P	18,96440	-7,17240	8,93050

O método de cálculo das cargas Mulliken, conhecido atualmente, como análise populacional de Mulliken, trata-se de um método arbitrário para designar cargas (ARROIO et al., 2010), cujos os resultados dependem de um conjunto de base usadas em um esquema de partição no uso de densidade da matriz para distribuir elétrons numa entidade molecular entre seus vários pares: átomos, ligações e orbital (ARAUJO et al., 2016) estes parâmetros eletrônicos utilizados para o cálculo de cargas atômicas se devem através da implementação e interpretação das cargas atômicas pontuais (GUADAGNINI & BRUNS, 1995). Neste contexto, ao analisar as propriedades das cargas de Mulliken da molécula miltefosina (Tabela 4), foi possível obter os valores mínimos e máximos nos átomos de carbono (-0,4652 a 0,0191) e oxigênio (-0,8909 a -0,5851), a qual foi possível identificar uma extremidade bastante nucleofílica nos átomos de carbono (C2), oxigênio

(83) 3322.3222

contato@joinbr.com.br

www.joinbr.com.br

(O23), (O24), (O25) e (O26) e uma extremidade eletrofílica nos átomos de carbono (C21), nitrogênio (N22) e fósforo (P27) (CARNEIRO et al., 2016).

Tabela 4. Análise populacional de Mulliken para os átomos de C, N, P e O do fármaco miltefosina.

1 C	-0,3056
2 C	-0,4652
3 C	-0,4634
4 C	-0,4507
5 C	-0,2363
6 C	-0,2402
7 C	-0,2388
8 C	-0,2396
9 C	-0,2394
10 C	-0,2402
11 C	-0,2397
12 C	-0,2406
13 C	-0,2399
14 C	-0,2409
15 C	-0,2401
16 C	-0,2400
17 C	-0,2388
18 C	-0,2694
19 C	-0,3887
20 C	-0,0066
21 C	0,0191
22 N	0,5294
23 O	-0,8909
24 O	-0,8757
25 O	-0,5851
26 O	-0,6953
27 P	2,0403

Fonte: Dados da pesquisa.

CONCLUSÃO

O presente artigo objetivou caracterização do fármaco miltefosina, por meio do uso da modelagem molecular utilizando-se o método semi-empírico *Parametric Method 3*, possibilitando obter a estrutura conformacional de menor energia potencial 10739,2628 Kcal mol⁻¹ e o calor de formação (ΔH_f -191,3698 Kcal mol⁻¹). Após a molécula otimizada teve-se como objetivo encontrar os parâmetros geométricos

obtendo-se as dimensões moleculares de comprimento e ângulos de ligação, obteve-se também as coordenadas cartesianas em Angstrom (Å) e a análise das cargas de Mulliken obtendo-se os resultados através da função de onda SCF apresentando uma pequena variação na diferença de cargas, indicando os valores mínimos e máximos nos átomos,: carbono (-0,4652 a 0,0191), oxigênio (-0,8909 a -0,5851), nitrogênio (0,5294) e fósforo (2,0403), possibilitando identificar nos átomos de carbono (C2), oxigênio (O23), (O24), (O25) e (O26) regiões bastantes nucleofílica, e uma região eletrofílica nos átomos de carbono (C21) e nitrogênio (N22).e fósforo (P27). Os dados obtidos neste trabalho poderão ser utilizados futuramente no desenvolvimento de análogos mais eficientes, visando à otimização estrutural de fármacos.

REFERENCIAS

ALVARENGA, D.G.; ESCALDA, P.M.F.; COSTA, A.S.V.; e MONREAL, M.T.F.D. Leishmaniose visceral: estudo retrospectivo de fatores associados a letalidade. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. Vol. 43 (2): 194-197p., 2010.

ARAUJO, G. A.; SILVA, E.P.; SANABIO, R.G.; PINHEIRO, J.A.; ALBUQUERQUE, M.B.; CASTRO, R.R.; MARINHO, M.M.; LIMA, F.K.S.; MARINHO, E.S. Characterization in Silico of the Structural Parameters of the Antifungal Agent Ketoconazole. Rev. Science Signpost Publishing. Vol 3, p. 133-142, 2016.

ARROIO, A.; HONÓRIO, K. M.; SILVA, A. B. F. Propriedades químico-quânticas empregadas em estudos das relações estrutura-atividade. Rev. Química nova, Vol. 33, n. 3, p. 694-699, 2010.

BARBOSA, U. R. Seleção de compostos naturais candidatos à inibição da enzima isocitrato liase do paracoccidioides spp.: uma abordagem por triagem virtual e dinâmica molecular. 2016. 74 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Aplicadas à Saúde) Universidade Federal De Goiás, Jataí/GO.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Miltefosina para o tratamento da Leishmaniose Tegumentar. Secretaria de Vigilância em Saúde, Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias – CONITEC p.27,2016.

BRUNS, R. E.; GUADAGNINI, P.H. cargas atômicas em moléculas. Quím. Nova, 19, 149, 1996.

CAMPOS, J.F.F. Ação leishmanicida in vitro da miltefosine em formas promastigostas de *Leishmania (leishmania) amazonenses*, *Leishmania (viannia) guyanensis*, *Leishmania (viannia) brasiliensis* e um estudo in vivo da sua eficácia no tratamento da leishmaniose cutânea experimental [dissertação]. Brasília: Universidade de Brasília; 2008.

CARNEIRO, S. S.; LIMA, A. R.; MARINHO, M.M.; MARINHO, E.S. In silico study of the therapeutic agent in the treatment of non-Hodgkin's lymphomas, peripheral T-cell belinostat, a semi-empirical approach. Rev. Imperial journal of interdisciplinary research (IJIR). V.2, n. 8, 2016.

CARVALHO, I.; PUPO, M.T.; BORGES, A.D.L.; BERNARDES, L.S.C. Introdução A Modelagem Molecular de Fármacos no Curso Experimental de Química Farmacêutica. Quim. Nova, Vol. 26, No. 3, 428-438, 2003.

DEWAR, M. J., ZOEBISCH, E. G., HEALY, E. F., & STEWART, J. J. Development and use of quantum mechanical molecular models. 76. AM1: a new general purpose quantum mechanical molecular model. Journal of the American Chemical Society, 107(13), 3902-3909, 1985.

GOMES, M. L. S.; ALVES, W. A, ELKHOURY A. Análise dos óbitos de leishmaniose tegumentar notificados no Sinan, Brasil - 2003. In: Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, editor. XLII Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical; 2006.

LEAL, R. C.; MOITA, J. M. A QUÍMICA QUÂNTICA NA COMPREENSÃO DE TEORIAS DE QUÍMICA ORGÂNICA. Quim. Nova, Vol. 33, No. 5, 1211-1215,
Leishmaniose visceral: estudo retrospectivo de fatores associados a letalidade. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. Vol. 43 (2): 194-197p., 2010.

MAGALHÃES, U. O. Modelagem molecular e avaliação da relação estrutura-atividade acoplados a estudos físico-químicos, farmacocinéticos e toxicológicos in silico de derivados

heterocíclicos com atividade leishmanicida. 2009. Tese de Doutorado. Masters dissertation. Program Graduate in Sciences Pharmaceutical, Faculty of Pharmacy, Federal University from Rio de Janeiro.

MARTINS, G. A.de Sns; DE LIMA, Dilma. Leishmaniose: do diagnostico ao tratamento., Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.9, N.16; p. 2557, 2013.

NAMBA, A. M.; SILVA, V. B.C.; SILVA, H. T. P. Dinâmica molecular: teoria e aplicações em planejamento de fármacos. Ecl. Quím., São Paulo, V.33(4): 13-24, 2008.

ORTOLAN, Alexandre Osmar. Apostilha de praticas de química computacional. 88f. TCC (licenciatura em química)- Campus Pato Branco, Universidade tecnológica do Paraná, Paraná, 2014.

REBOREDO, B. M. Modelagem molecular aplicada ao estudo de ligantes candidatos a fármacos com atividades antileishmaniais. 99 p. Dissertação (Mestrado em físico-química) Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande/MG,2012.

SANTOS, W. C.; DA SILVA, F. C.; PINTO, A. C.; FERREIRA, V. F. os novos fármacos aprovados em 2014 pelo food drug administration: análise do relatório de 2015. Rev. Virtual Quim, Vol. 7, No. 4, 1535-1551, 2015.

SILVA, J.; LIMA, A. R.; BEZERRA, L. L.; MARINHO, M. M.; MARINHO, E. S. Bixinoids potentially active against dengue virus: a molecular docking study. International Journal of Scientific Research & Engineering, Volume 8, Issue 4, 2017.

THOMPSON, M. A ArgusLab 4.0. 1. Planaria Software LLC, Seattle, WA, 2004.

Agradecimentos

A Universidade Estadual do Ceará (UECE), em especial Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa (Proppq) pelo apoio a realização deste trabalho. À Fundação Cearense de Amparo à pesquisa (FUNCAP) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), fundação do Ministério da Educação (MEC) pela

concessão de bolsa de estudo como apoio financeiro ao desenvolvimento científico.

