
In vitro and *in silico* antileishmanial activity of voriconazol (Vfend®)

Atividade antileishmania *in vitro* e *in silico* do voriconazol (Vfend®)

Received: 20-05-2024 | Accepted: 23-06-2024 | Published: 26-06-2024

Angela Maria Comapa Barros

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5511-8992>
Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA, Brasil
E-mail: angelamariaanjo@gmail.com

Antonia Maria Ramos Franco

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4300-5325>
Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA, Brasil
E-mail: afranco@inpa.gov.br

Micael Davi Lima Oliveira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1832-0542>
Faculdade de Ciências Farmacêuticas/UFAM, Brasil
E-mail: micael.oliveira@ufam.edu.br

Bruno Bezerra Jensen

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9102-9698>
Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA, Brasil
E-mail: brunobjensenfarma@gmail.com

Emersom Silva Lima

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9367-2812>
Faculdade de Ciências Farmacêuticas/UFAM, Brasil
E-mail: eslima@ufam.edu.br

Claudia Dantas Comandoli Wyrepkowski

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9699-7308>
Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA, Brasil
E-mail: klaudiadcw@gmail.com

ABSTRACT

American Cutaneous Leishmaniasis (ACL) is a public health problem in 88 countries. The treatment of ATL is based on pentavalent antimony, which has several adverse effects. And through new alternatives for the treatment of leishmaniasis, the use of *off-label* medications appears. The objective of this work was to evaluate, through *in vitro* and *in silico* tests, the activity of voriconazol in tablet form as *off-label* against the promastigote forms of *Leishmania amazonensis* and *Leishmania guyanensis*. In the bioassay, species of *Leishmania* (*L.*) *amazonensis* and *Leishmania* (*V.*) *guyanensis* were used, cultivated in RPMI medium with 10% SFBi. The 50% inhibitory concentration (IC₅₀) of voriconazol was evaluated by the inhibition of promastigotes exposed to voriconazol at concentrations of 6.25 to 200 µg.mL⁻¹ diluted in culture medium and fluconazole at 25 to 400 µg.mL⁻¹. In the experiment, parasites plus culture medium and pentamidine isethionate at 3 µg.mL⁻¹ were used as controls for 24, 48 and 72 h in triplicate. The concentrations of voriconazol used in the test showed antileishmanial activity against promastigotes of both *Leishmania* species, with an IC₅₀ of 5.34 µg.mL⁻¹ for *L. amazonensis* and 5.66 µg.mL⁻¹ for *L. guyanensis*. Therefore, the study showed that *off-label* voriconazole presented better results than fluconazol against *Leishmania* species, in addition to showing better enzymatic coupling of new targets.

Keywords: *Leishmania*; Molecular modeling; Promastigotes.

RESUMO

A Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) constitui um problema de saúde pública em 88 países. O tratamento da LTA é a base de antimonial pentavalente, o qual apresenta vários efeitos adversos. E por meio de novas alternativas para o tratamento da leishmaniose, surge o uso de medicamentos como *off label*. O objetivo deste trabalho foi avaliar por testes *in vitro* e *in silico* a atividade do voriconazol em forma de comprimido como *off label* contra as formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* e *Leishmania guyanensis*. No bioensaio foi utilizado as espécies de *Leishmania (L.) amazonensis* e *Leishmania (V.) guyanensis* cultivados em meio RPMI com 10% de SFBI. A concentração inibitória 50% (CI₅₀) do voriconazol foi avaliado pela inibição dos promastigotas expostos ao voriconazol nas concentrações de 6,25 a 200 µg.mL⁻¹ diluído em meio de cultura e o fluconazol de 25 a 400 µg.mL⁻¹. No experimento usou-se como controles, parasitos mais meio de cultivo e a isetionato de pentamidina a 3 µg.mL⁻¹ durante 24, 48 e 72 h em triplicata. As concentrações do voriconazol utilizadas no teste apresentaram atividade antileishmania contra os promastigotas das duas espécies de *Leishmania*, com uma CI₅₀ de 5,34 µg.mL⁻¹ para *L. amazonensis* e 5,66 µg.mL⁻¹ para *L. guyanensis*. Portanto, o estudo mostrou que o voriconazol como *off label* apresentou melhores resultados do que o fluconazol contra espécies de *Leishmania*, além mostrar melhores acoplamentos enzimáticas de novos alvos.

Palavras-chave: *Leishmania*; Modelagem molecular; Promastigotas.

INTRODUÇÃO

As leishmanioses são doenças que integram um grupo de doenças infecciosas negligenciadas, uma vez que, ocorrem nos países mais pobres e atingem as populações mais vulneráveis e com difícil acesso aos serviços de saúde (OPAS/OMS, 2017). Essas doenças são causadas por protozoários do gênero *Leishmania*, transmitidas por meio de vetores flebotomíneos infectados e possuem um espectro grande de manifestações clínicas (BRASIL, 2017).

No Brasil, a Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) é uma das afecções dermatológicas que merece mais atenção, devido suas complicações, podendo ocorrer deformidades ao indivíduo, que envolve questões psicológicas e, com isso, trazendo reflexos negativos socioeconômico, uma vez que, geralmente, pode ser considerada uma doença ocupacional (BRASIL, 2017).

A LTA é endêmica em 88 países e, estima-se que ocorreram mais de 600.000 a 1 milhão de pessoas infectadas a cada ano (DNDi, 2021). No Brasil, a incidência da LTA apresentou registro anual de 15.922 mil casos, destes 1.315 no Amazonas e Manaus com 506 confirmados e notificados no período de 2019 (SINAN, 2021). Em 2020, o Brasil ocupou a primeira colocação de novos casos de leishmaniose cutânea (16.432) nas Américas.

O tratamento atual dessa doença é a base antimoniato de N-metilgucamina (Glucantime[®]), além dos medicamentos, isetionato de pentamidina, miltefosina, Desoxicolato de anfotericina B e anfotericina B lipossomal, que constituem opções

terapêuticas aos casos de baixa eficiência dos tratamentos com antimoniato (CARVALHO et al. 2019). Porém, apresentam reações adversas graves, são injetáveis. Ademais, a miltefosina, a paromomicina, além dos azólicos, o itraconazol, cetoconazol e fluconazol, são usados em alguns casos (HUSSAIN et al. 2014). Mas, exercendo ação coadjuvante contra algumas espécies de *Leishmania* (SALERNO et al. 2010).

No que se refere, aos azóis, o voriconazol, é de segunda geração, originou-se da ideia de obter um fármaco com espectro de ação mais amplo do que o fluconazol. Ele tem apresentado elevado potencial contra uma ampla variedade de fungos, incluindo os patogênicos encontrados clinicamente, como *Candida* spp., *Aspergillus* spp., *Scedosporium* e *Fusarium* spp. (DONNELLY E DE PAUW, 2004). Já no estudo de Kulkarni et al. (2013) relatou pela primeira vez *in vitro*, a inibição da síntese de ergosterol pelo voriconazol, melhor do que o fluconazol contra a espécie de *Leishmania* cutânea e visceral de parasitos ativos de insetos e de mamíferos.

Por meio do estudo de Figueiredo et al. (2018), selecionaram 84 artigos científicos em relação as proteínas que desempenham importantes funções biológicas nos parasitos com promissores alvos moleculares para fármacos antileishmania, sendo as principais: tripanotiona redutase (2JK6), pteridina redutase 1 (1E7W) e topoisomerase I (2B9S) entre outros. E diante destas descobertas, fez-se necessário investigar o voriconazol como *off label in vitro* contra outras cepas de *Leishmania* e investigar os melhores alvos moleculares por meio de triagem virtual *in silico*, e assim, conhecer novos alvos para esseazol.

MATERIAIS E MÉTODOS

O projeto foi desenvolvido no Laboratório de Leishmaniose e Doença de Chagas no Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia (INPA) e na Universidade Federal do Amazonas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas.

Substâncias Químicas de Referência (SQR)

A forma farmacêutica empregada no experimento foi o voriconazol (Vfend®) em comprimido. Também usou-se uma solução para infusão de fluconazol com 2 mg.mL⁻¹ em frasco com 100 mL, gentilmente doado pelo Farmacêutico Sérgio Pimentel de Carvalho.

Preparação da solução do voriconazol (Vfend®)

Foi utilizado um comprimido de 200 mg, o mesmo foi dissolvido em 1mL de meio RPMI e homogenizado em vortex por 15 minutos em um microtubo, em seguida, foi retirado uma alíquota de 30 µL e adicionado em 10 mL de meio de cultivo, para a obtenção da solução de voriconazol para ser utilizada no experimento.

Preparação do fluconazol

Em um ambiente estéril (cabine de fluxo laminar) foi aspirado 1 mL do frasco do fluconazol, em seguida, adicionou-se 4 mL de meio RPMI 1640. Após a homogeneização da diluição, seguiu um cálculo de regra de três para a obtenção das concentrações seriadas de 400 a 25 µg.mL⁻¹.

Obtenção e manutenção de *Leishmania*

Foram utilizadas as espécies de *Leishmania* (V.) *guyanensis* (MHO/BR/1975/M4147) e *Leishmania* (L.) *amazonensis* (MHOM/BR/2009/IM5584) mantidas criopreservadas no Laboratório de Leishmaniose e Doença de Chagas, INPA. Posteriormente, cultivadas em meio RPMI 1640 suplementado com Soro Fetal Bovino inativado (SFBi) e incubadas em estufa a 25 °C.

Determinação da atividade antileishmania e da concentração inibitória 50% (CI₅₀) do voriconazol (Vfend®) e do fluconazol contra as formas promastigotas.

A solução do voriconazol (Vfend®) e do fluconazol foram avaliadas pela inibição do crescimento e mortalidade das formas promastigotas de *L. (V.) guyanensis* e *Leishmania (L.) amazonensis*. Mas, antes de cada experimento, observou-se a motilidade flagelar e a morfologia geral dos parasitos. As formas promastigotas metacíclicos foram centrifugadas a 4.400 rpm/15 minutos, lavadas em salina estéril, diluídas e contadas em câmara de Neubauer e ajustadas para obter a concentração parasitária de 10⁶ parasitos.mL⁻¹. Em uma placa de 96 poços os parasitos foram expostos ao voriconazol nas concentrações de 200 a 6,25 µg.mL⁻¹. Já o fluconazol foi utilizado concentrações de 400 a 25 µg.mL⁻¹. Os controles usados nos testes, foram: apenas parasitos mais meio de cultivo (negativo), e o isetonato pentamidina (positivo) a 3µg.mL⁻¹ durante 24, 48 e 72 horas, incubados em estufa a 25 °C. Posterior esses tempos, a viabilidade parasitária foi avaliada pelo método de contagem de promastigotas vivos (avaliando a motilidade celular) em câmara de Neubauer em microscópio óptico (400x). Os bioensaios foram

realizados em triplicata e a média do número de promastigotas vivos foram utilizados para calcular a CI_{50} , esses dados foram utilizados para expressar os resultados da atividade das amostras avaliadas, e assim, selecionar as concentrações mais promissoras.

Ancoragem molecular

Para investigar uma possível interação dos bioativos com os alvos enzimáticos de interesse neste estudo, realizou-se a preparação das estruturas dos receptores e ligantes onde os protocolos de docking molecular foram baseados em Forli et al. (2016). A estrutura 3D das enzimas, DNA topoisomerase I humano (1TL8), ornitina descarboxilase de *Leishmania donovani* (200O), tripanotiona sintetase (2VPM), tripanotiona redutase de *Trypanosoma brucei* (2WP5) e triparedoxina peroxidase de *Leishmania major* (4K1F) foram obtidas no banco de dados de proteínas, o Protein Data Bank (PDB) (BURLEY et al. 2021) com o PDB ID: 2WP5 (PETTERSON et al. 2011), 2VPM (FYFE et al. 2008). Em seguida, com o auxílio do software Schrodinger Maestro 2021-2 (SCHORODINGER, 2021) removeu-se moléculas de água, ligantes co-cristalizados e quaisquer heteroátomos não envolvidos na ligação, assim como adicionou-se átomos de Hidrogênio não captados pela cristalografia, além de todas as figuras do complexo terem sido construídas por meio dele. As estruturas químicas das moléculas da isetionato de pentamidina, fluconazol e voriconazol foram desenhadas no software MarvinSketch v.23.17 a partir de bancos de dados químicos e outras manualmente, tendo a geometria tridimensional do ligante otimizada pelo método MMFF94. Após isso, utilizou-se um script automatizado em Python, por meio do script prepare_receptor4.py e prepare_ligand4.py, onde os ligantes e receptores foram convertidos automaticamente para o formato.pdbqt necessário para o docking molecular no algoritmo AutoDock Vina v.1.2.5 (EBERHARDT et al. 2021) utilizando o parâmetro de exaustividade igual a 96. Os diagramas de interações químicas no complexo proteína-ligante foram construídos com o software BIOVIA Discovery Studio 2021.

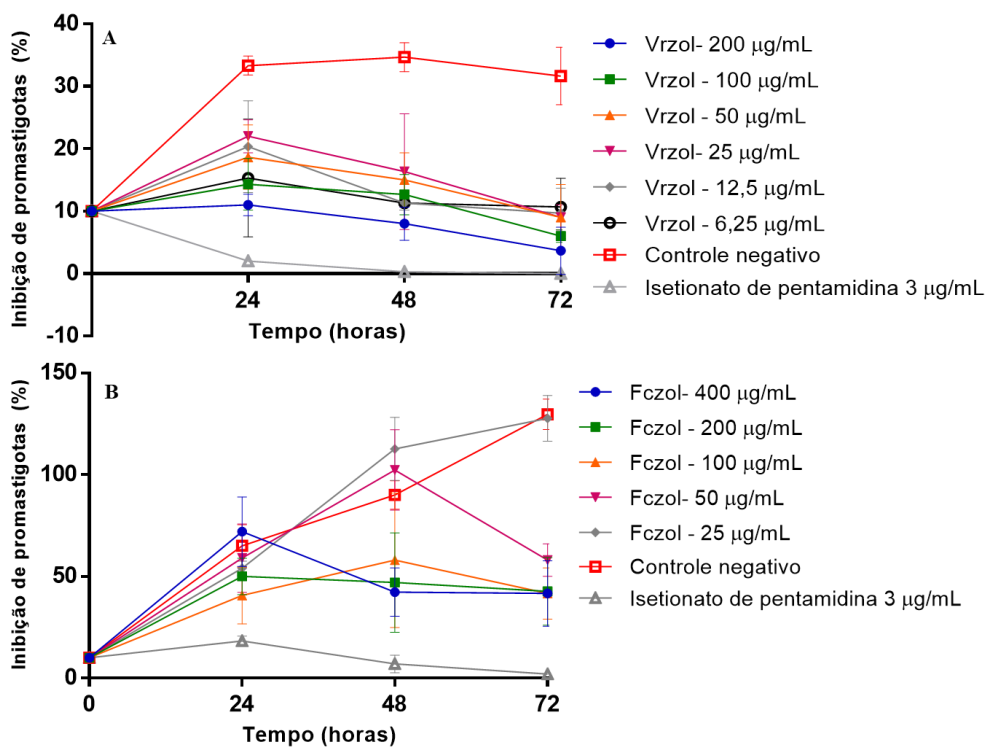
Análise estatística

Os valores da CI_{50} foram obtidos por de regressão não-linear, por análise de inibição e das diferenças estatísticas entre as concentrações parasitárias e os controles, foram analisadas por Anova seguida do teste de Tukey com 95% de confiança, utilizando o programa GraphPrism 6.0[®].

RESULTADOS

Os resultados da atividade da solução do Voriconazol contra *L. amazonensis* nas diferentes concentrações em relação ao tempo, conforme a figura 1. Observou-se que na maior concentração de 200 µg.mL⁻¹, mostrou maior redução no quantitativo de parasitos viáveis. Ademais, observou-se diferenças estatísticas significativas em relação ao controle negativo com P < 0,001 por 24, 48 e 72 horas. Além de mostrar significativo em relação as concentrações de 25 µg.mL⁻¹ com um P = 0,0056 e de 12,5 µg.mL⁻¹ com um P = 0,0279, após 24 horas. Já em 72 h, as concentrações utilizadas da solução do voriconazol permaneceram significativas quando comparadas com a isetionato de pentamidina, com isso, obteve-se uma CI₅₀ de 5,34 µg.mL⁻¹. Em relação ao fluconazol, as duas maiores concentrações apresentaram significativos sobre as concentrações (50 e 25 µg.mL⁻¹) e o controle negativo com um P < 0,0001 durante 48 e 72 h. Além de apresentar uma CI₅₀ de 57,05 µg.mL⁻¹ em 72 h.

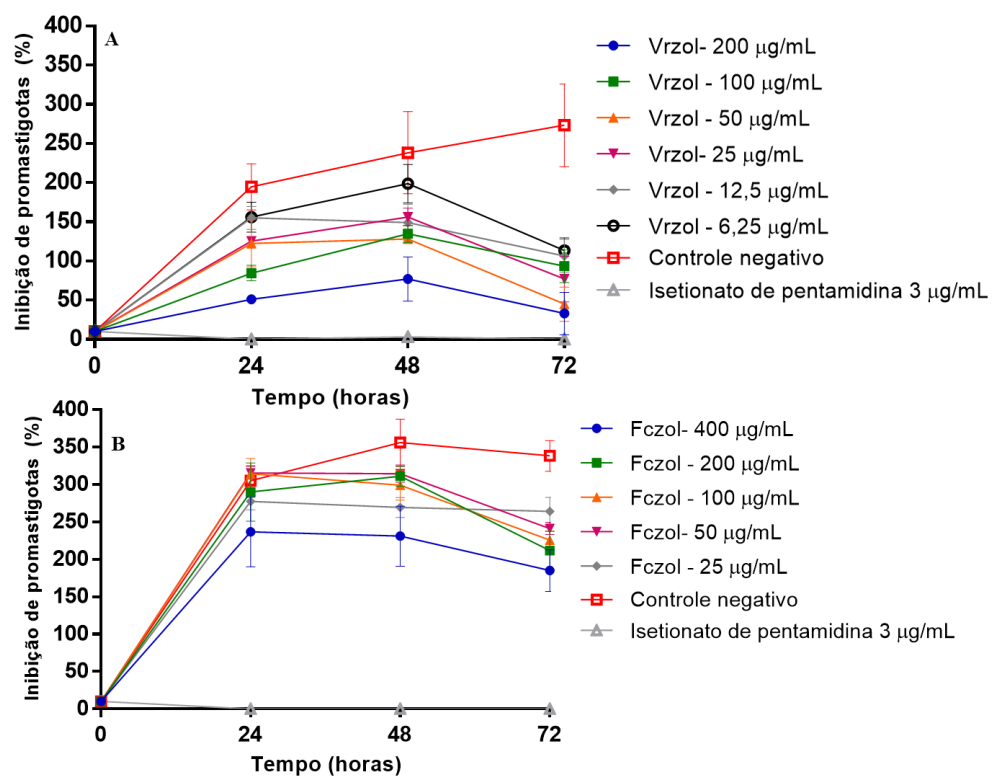
Figura 1 - Atividade antileishmania da solução do voriconazol nas concentrações a partir de 200 a 6,25 µg.mL⁻¹ (A) e o fluconazol de 400 a 25 µg.mL⁻¹ (B) contra as formas promastigotas de *Leishmania (Leishmania) amazonensis* durante 24, 48 e 72 h, isetionato de pentamidina (controle positivo) e meio de cultivo mais parasitos (controle negativo). Média obtidas de três repetições.



Fonte: Autores (2024).

A solução do voriconazol demonstrou atividade antileishmania nas concentrações de 200 e 100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, inibiu o crescimento dos promastigotas de *L. guyanensis* durante 24 h. E, após 48 horas, a solução do voriconazol nas maiores concentrações mostraram significativo sobre concentrações abaixo de 50 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e o controle negativo, com um valor de $P < 0,001$. Já em 72 horas, a solução do voriconazol mostrou-se significativa em todas as concentrações utilizadas quando comparadas com o controle negativo, e assim, obteve uma CI_{50} de 5,66 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Quanto ao fluconazol, a concentração de 400 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ permaneceu significativo em todos os horários (24, 48 e 72 h), e também sobre as concentrações de 50 e 25 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e o controle negativo. Ainda, obteve uma $CI_{50} = 114,5 \mu\text{g.mL}^{-1}$ por 72 h, conforme figura 2.

Figura 2 - Atividade antileishmania da solução do voriconazol nas concentrações de 200 a 6,25 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (A) e o fluconazol de 400 a 25 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ contra as formas promastigotas de *Leishmania (Viannia) guyanensis* durante 24, 48 e 72 h, isetonato de pentamidina (controle positivo) e meio de cultivo mais parasitos (controle negativo). Média obtida de três repetições.



Fonte: Autores (2024).

Por meio da análise de ancoragem molecular observou-se que o voriconazol apresentou maior afinidade com os alvos enzimáticos, dados apresentados na tabela 1, principalmente em relação aos alvos tripartona reductase (2WP5) e a triparedoxina

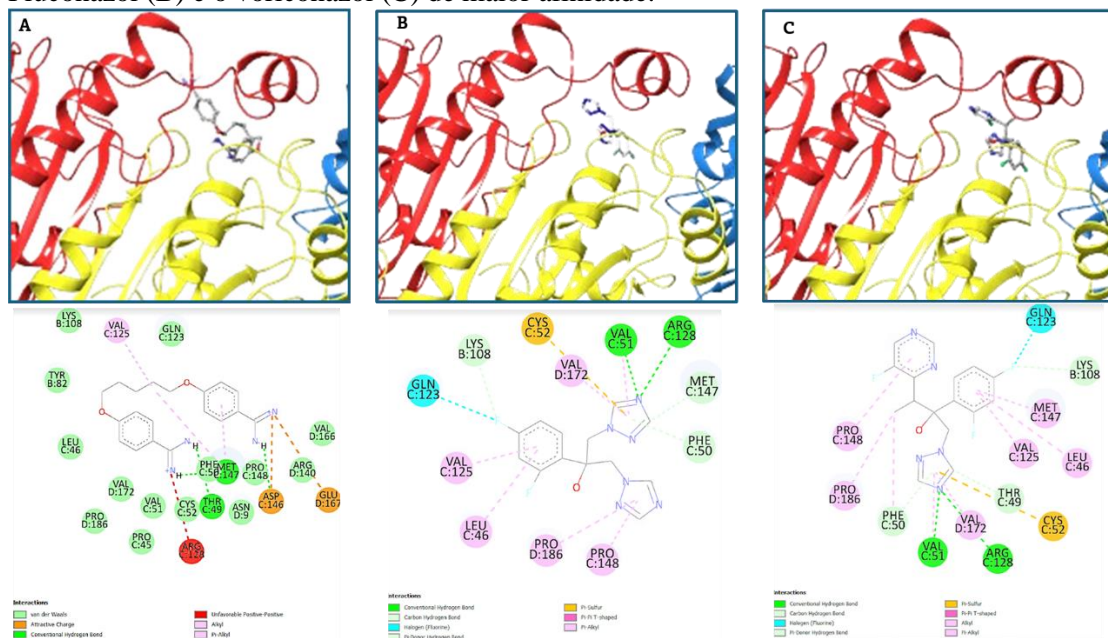
peroxidase (4K1F). Na figura 4 mostra que que o voriconazol apresentou três ligações de hidrogênio, importante para deixar a o acoplamento do complexo, enzima e ligante mais estável.

Tabela 1- Energia de interação dos fármacos com os alvos, - DNA topoisomerase I humano (1TL8), ornitina descarboxilase de *Leishmania donovani* (200O), tripanotíona sintetase (2VPM), tripanotíona redutase de *Trypanosoma brucei* (2WP5) e triparedoxina peroxidase de *Leishmania major* (4K1F). Número de repetições = 8.

Amostras	Isetionato de pentamidina	Fluconazol	Voriconazol
	Kcal/mol		
ITL8	-6.868±0.10	-7.602±0.20	-7.749±0.10
200O	-6.463±0.13	-6.569±0.12	-7.927±0.11
2VPM	-7.299±0.18	-7.102±0.10	-8.443±0.13
2WP5	-7.273±0.15	-6.970±0.15	-8.743±0.12
4K1F	-6.168±0.10	-6.318±0.10	-8.280±0.10

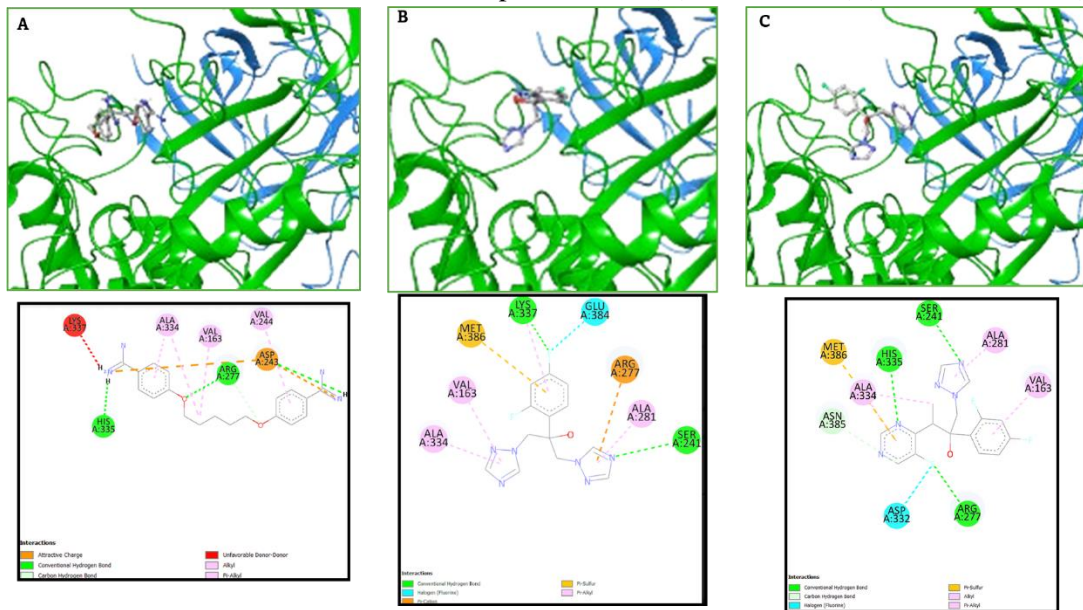
Fonte: Autores (2024).

Figura 3 – Interação da triparedoxina peroxidase (4K1F) com o isetionato de pentamidina (A), Fluconazol (B) e o voriconazol (C) de maior afinidade.



Fonte: Autores (2024).

Figura 4 – Representação de superfícies com maior tendências de ligações de hidrogênio da ornitina descarboxilase com o isetonato de pentamidina (A), Fluconazol (B) e o voriconazol (C).



Fonte: Autores (2024).

DISCUSSÃO

Ao comparar os resultados da concentração inibitória 50% (CI_{50}) entre as duas espécies de *Leishmania*, observou-se uma pequena diferença, sugerindo que a solução do voriconazol apresentou elevada atividade antileishmania. Quanto a CI_{50} de $5,34 \mu\text{g.mL}^{-1}$ da solução do voriconazol, quando comparado a CI_{50} de $57,05 \mu\text{g.mL}^{-1}$ do fluconazol contra a *Leishmania amazonensis* por 72 h, obsevou-se que o voriconazol apresentou maior ação antileishmania do que o seu precursor. Ademais, quando comparou a CI_{50} de $5,66 \mu\text{g.mL}^{-1}$ da solução do voriconazol em relação a CI_{50} de $114,5 \mu\text{g.mL}^{-1}$ do fluconazol frente a *Leishmania guyanensis*, o voriconazol mostrou novamente altamente promissor em relação a atividade antileishmania, do que o fluconazol.

Estudos tem buscado de forma incessante por novos tratamentos mais eficazes com atividade antileishmania, devido os medicamentos utilizados atualmente apresentam falhas terapêuticas e elevada toxicidade, com isso, surge a perspectiva de estudo com medicamentos como alternativa para ser usado como *off label*, dentre eles a da classes dos azóis, que causam danos na rota biossintética do ergosterol, esterol presente na membrana plasmática de *Leishmania* spp. impedindo a formação da membrana celular, além de outras funções metabólicas que acarretam na morte do parasito (PÉREZ VICTORIA et al. 2006).

Neste presente estudo foi demonstrado pela primeira vez a atividade antileishmania do voriconazol na forma farmacêutica em comprimido (fármaco com excipientes) como *off label in vitro* contra espécies de *Leishmania*. Estes achados foram possíveis devido as modificações químicas do voriconazol, tornando-o mais potente do que o fluconazol, resultado visto também frente espécies de fungos causadores de infecções graves (FROMTLING, 1996).

Por meio do estudo Kulkarni et al. (2013), demonstraram que nas concentrações crescentes das drogas puras (fármaco sem excipientes), usou concentrações de 0,1 a 50 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ do voriconazol, cetoconazol e fluconazol. Elas inibiram o crescimento de três espécies de promastigotas de *L. amazonensis* (LV78), *L. major* (Seidman) e *L. donovani* (AG83). O fluconazol inibiu os parasitos numa concentração maior de 10 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Ademais, em um segundo estudo do mesmo autor, mostrou o voriconazol puro foi altamente promissor contra promastigotas de três espécies de parasitas de *Leishmania*, com valores de CI_{50} de 2,13 e 3,62, e com $P < 0,05$. Resultados que corroboram com o nosso estudo, pois a solução do voriconazol mostrou valores da $\text{CI}_{50} = 5,34 \mu\text{g.mL}^{-1}$ para *L. amazonensis* e uma $\text{CI}_{50} = 5,66 \mu\text{g.mL}^{-1}$ contra *L. guyanensis*. Esses valores são sugestivos de alta atividade antileishmania, conforme tabela de convenção da atividade antileishmania (OSÓRIO et al. 2007).

Estudos realizados por Buckner et al. (2005) demonstraram uma CI_{50} para *L. major* e *L. amazonensis* maiores que 10 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ do fluconazol testada durante o ensaio para as formas amastigotas cultivadas em macrófagos. Ainda demonstraram que o fluconazol possui uma menor ação *in vitro*, porém é considerado um fármaco leishmanicida por possuir características de deposição na pele. No entanto, alguns estudos permanecem com alguns questionamentos, uma vez que, sugerem um indicativo de que o CI_{50} do fármaco puro (fluconazol) mostrou superior a 100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ utilizado como concentração máxima nos ensaios, ou o fármaco não possui nenhuma ação contra a espécie de *Leishmania* utilizada no experimento do gênero *L. amazonensis* (OLIVEIRA, 2012).

Os fármacos fluconazol e voriconazol apresentaram valores de energias favoráveis, havendo potencial para interagir com a proteína nucleocapsídeo viral (-3,95 e -4,85) e a 3CLproel (-5,08 e -5,52) do SAR-CoV-2 respectivamente (Silva et al. 2020). Neste estudo foi observado que o voriconazol mostrou resultados de energia de interação evidentes melhor do que o fluconazol em relação a todos os alvos estudados para a inibição de *Leishmania* (DNA topoisomerase I (-7.749/-7.602), ornitina descarboxilase

de *Leishmania donovani* (-7.927/-6.569), tripanotiona sintetase (-8.443/-7102), tripanotiona redutase de *Trypanosoma brucei* (-8.743/-6.970) e triparedoxina peroxidase de *Leishmania major* (-8.280/-6.318) respectivamente.

No estudo foi mostrado que o voriconazol apresentou três ligações de hidrogênio favorecendo a ligação de acoplamento com a enzima ornitina descarboxilase, um alvo importante na inibição da *Leishmania*, pois é a primeira enzima reguladora da via das poliaminas (COLOTI; ILARI, 2011), considerada uma enzima essencial em *Leishmania* spp. apesar desses parasitos serem auxotróficos para poliaminas. As poliaminas atuam regulando o crescimento e diferenciação celular. Na síntese destas, encontra-se a ação de duas enzimas de fundamental importância, que são a ornitina descarboxilase e a S-adenosil-L-metionina descarboxilase (BRUM et al. 1996). As poliaminas servem de substrato para a tripanotiona redutase (TR) na síntese da tripanotiona (T), alvos importantes inibidas pela isetionato de pentamidina (BASSELIN et al., 1997), mas o estudo *in silico* mostrou o voriconazol apontando melhores encaixes com a enzima ornitina descarboxilase (-7.927) e da tripanotiona redutase (-8.743) de energia de interação.

Quanto a flavoenzima oxireductase Tripanotiona Redutase (TR) atua de forma a retornar a tripanotiona que foi oxidada nos processos de detoxificação de ROS para a sua forma reduzida utilizando NADPH como fonte de elétrons (MANTA et al. 2013). Essa enzima não possui correspondente no genoma de mamíferos e o sistema Tripanotiona/TR presente em tripanossomatídeos é substituído por GSH/glutationa redutase (GR) no hospedeiro humano (ILARI et al. 2017).

O voriconazol pertence ao grupo dos azólicos e foi desenvolvido pelos Laboratórios Pfizer® com o objetivo de ampliar o espectro de ação e a potência do fluconazol, pela introdução de um grupo α -metila na estrutura principal propila do fluconazol (GIRMENIA et al. 1998) e a substituição de um anel triazol por uma estrutura 4-fluoropirimidina, a qual promoveu o aumento da potência antifúngica (SABO et al. 2000). Resultados observados neste estudo quando o fluconazol é comparado com os resultados do voriconazol em relação atividade antileishmania *in vitro* e *in silico*.

CONCLUSÃO

Por meio da solução do voriconazol permitiu mostrar melhor inibição das formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* e *Leishmania guyanensis* em relação ao fluconazol, além de apresentar maior afinidade aos alvos enzimáticos. Portanto, o

voriconazol apresentou resultados promissores antileishmania como *off label*, mas precisa de mais estudos *in vitro* e *in vivo*.

REFERÊNCIAS

- BASSELIN, M; BADET-DENISOT, M.A; LAWRENCE, F; ROBERT-GERO, M. Effects of pentamidine on polyamine level and biosynthesis in wild-type pentamidine treated and pentamidine-resistant Leishmania. *Exp Parasitol.*, v. 85, p.274-282, 1997.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana. Relatório técnico. Brasília. 1ª edição. 2017.
- BUCKNER, F.S; WILSON, A.J. Colorimetric Assay For Screening Compounds Against *Leishmania* Amastigotes Grown In Macrophages *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, v. 72, n. 5, p. 600– 605, 2005.
- BRUN, R; BUHLER, Y; SANDMEIER, U; KAMINSKI, R; BACHI, C.J; RATTENDI, D; LANE, S; CROFT, S; SNOWDON, D; YARDLEY, V; CARAVATTI, G; FREI, J; STANEK, J; METT, H. *In vitro* trypanocidal activities of new S-adenosylmethionine decarboxylase inhibitors. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v. 40, p.1442- 1447, 1996.
- BURLEY, S.K; BHIKADIYA, C; BI, C; BITTRICH, S; CHEN, L; CRICHLOW, G.V; CHRISTIE, C.H; DALENBERG, K; COSTANZO, L.D et al. RCSB Protein Data Bank: powerful new tools for exploring 3D structures of biological macromolecules for basic and applied research and education in fundamental biology, biomedicine, biotechnology, bioengineering and energy sciences. *Nucleic Acids Research*, v. 49(D1):D437–D451, 2021.
- CARVALHO, S.H. et al. American tegumentary leishmaniasis in Brazil: a critical review of the current therapeutic approach with systemic meglumine antimoniate and short-term possibilities for an alternative treatment. *Tropical. Medicine and International Health*, v. 24, n. 4, p. 380–391, 2019.
- COLOTTI, G.; ILARI, A. Polyamine metabolism in *Leishmania*: from arginine to trypanothione. *Amino Acids*, v. 40, n. 2, p. 269-85, 2011.
- DONNELLY, J.P; DE PAUW, B.E. Voriconazole – a new therapeutic agent with an extended spectrum of antifungal activity. *Clinical Microbiology and Infectious Diseases*.v. 10, suppl 1, p. 107-117, 2004.
- DNDi. Drugs for Neglected Diseases initiative. InfoLEISH - Boletim informativo da redeLEISH-5rd ed. 2021. (https://dndial.org/wp-content/uploads/2023/10/informativo_infoleish_edicao_5_por_digital.pdf). Accessed on 18 Mai 2024.
- EBERHARDT, J; SANTOS-MARTINS, D; TILLACK, A.F; FORLI, S. AutoDock Vina 1.2.0: New Docking Methods, Expanded Force Field, and Python Bindings. *Journal of Chemical Information and Modeling*, v. 61(8):3891–3898, 2021.
- FYFE, P.K; OZA, S.L; FAIRLAMB, A.H; HUNTER, W.N. *Leishmania* Trypanothione Synthetase-Amidase Structure Reveals a Basis for Regulation of Conflicting Synthetic and Hydrolytic Activities. *Journal of Biological Chemistry*, v. 283(25):17672–17680, 2008.
- FIGUEIREDO, K.A; FIGUEIREDO, J.F.S; COSTA, R.K.M; ALVES, M.M.M; MAGALHÃES, J.L; CARVALHO, A.L.M; LIMA, F.C.A. Prospecção de Alvos Bioquímicos para Estudo *in silico* na Quimioterapia Antileishmania, *Rev. Virtual Quim.*, v. 10 n. 5, p. 1485-1501, 2018.

- FORLI, S; HUEY, R; PIQUE, M.E; SANNER, M.F; GOODSSELL, D.S; OLSON, A.J. Computational protein–ligand docking and virtual drug screening with the AutoDock suite. *Nature Protocols*. V. 11(5):905–919, 2016.
- FRGIRMENIA, C; LUZI, G; MONACO, M; et al. Use of voriconazole in treatment of *Scedosporium apiospermum* infection: Case report. *J. Clin. Microbiol.*, v.36, p. 1436–1438, 1998.
- OMTLING, R.A. Voriconazol. *Drugs of the Future*, v. 21, n. 3, p. 266–271, 1996.
- KULKARNI, M; NIVEDITA REDDY, N; GUDE, T; MCGWIRE, B.S. O voriconazol suprime o crescimento de espécies de *Leishmania in vitro*. *Parasitol Res* 112, 2095–2099, 2013.
- HUSSAIN, H; AL-HARRASI, A; AL-RAWAHI, A; GREEN, I.R; GIBBONS, S. *Chem. Rev.*, v. 114, p. 10369–10428, 2014.
- ILARI, A. et al. A gold-containing drug against parasitic polyamine metabolism: the X-ray structure of trypanothione reductase from *Leishmania infantum* in complex with auranofin reveals a dual mechanism of enzyme inhibition. *Amino Acids*, v. 42, n. 2-3, p. 803–11, 2012.
- MANTA, B. et al. Trypanothione: a unique bis-glutathionyl derivative in trypanosomatids. *Biochim Biophys Acta*, v. 1830, n. 5, p. 3199–216, 2013
- OMS. Control of the leishmaniasis: report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis, 2017.
- OLIVEIRA, L.F.G; GILBERT, B; VILLAS BÔAS, G.K. Oportunidades para inovação no tratamento da leishmaniose usando plantas e produtos naturais. *Revista Fitos*, Rio de Janeiro, v. 8(1): 1–72, 2012.
- OSORIO, N.S; CARVALHO, A; ALMEIDA, A.J; PADILLA-LOPEZ, S; LEAO, C; LARANJINHA, J; LUDOVICO, P; PEARCE, D.A; RODRIGUES, F. Nitric oxide signaling is disrupted in the yeast model for Batten disease. *Mol Biol Cell*, v. 18, n. 7, p. 2755–2767, 2007.
- PÉREZ-VICTORIA, J. M^a; PÉREZ-VICTORIA, F.J; CASTANYS, S; GAMARRO F. Estrategias terapéuticas y bases moleculares de la resistencia a fármacos frente a la leishmaniasis. *Bio jornal*, v. 5, n. 1, p. 18, 2006.
- PATTERSON, S; ALPHEY, M.S; JONES, D.C; SHANKS, E.J; STREET, I.P; FREARSON, J.A; WYATT, P.G; GILBERT, I.H; FAIRLAMB, A.H. Dihydroquinazolines as a Novel Class of *Trypanosoma brucei* Trypanothione Reductase Inhibitors: Discovery, Synthesis, and Characterization of their Binding Mode by Protein Crystallography. *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 54(19):6514–6530, 2011.
- SABO, J.A; ABDEL-RAHMAN, S.M. Voriconazol: a new triazole antifungal. *Ann. Pharmacother.* v.34, p. 1032–1043, 2000.
- SALERNO, C; CARLUCCI, A.M; BREGNI, C. Study of in vitro drug release and percutaneous absorption of fluconazol from topical dosage forms. *AAPS PharmSciTech*, v.11, n.2, p. 986–993, 2010.
- Schrödinger, L. Schrödinger Release 2021-2. New York: [s.n.], 2021
- SINAN - Sistema de Informação de Agravos de Notificação. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/defthtm.exe?sinannet/cnv/ltaam.def>. 2021.