

**Avaliação por acoplamento molecular de inibidores da enzima pteridina redutase 1 de Leishmania***Evaluation by molecular docking of inhibitors of the enzyme pteridine reductase 1 from Leishmania**Evaluación del acoplamiento molecular de los principales inhibidores de la pteridina reductasa 1*Joabe Lima Araújo¹, Ruan Sousa Bastos¹, Gardênia Taveira Santos², Jessé Lima Araújo¹, Jefferson Almeida Rocha¹¹ Universidade Federal do Maranhão, Departamento de Ciências Naturais/Química, Grajaú, Maranhão, Brasil.² Universidade Estadual do Maranhão, Departamento de Enfermagem, Colinas, Maranhão, Brasil.**ABSTRACT**

Objective: The objective of this work is to perform a bioactive analysis of *Leishmania major* Pteridine Reductase 1 inhibitors (LmPTR1) through *in silico* molecular docking studies. **Method:** The receptor and the ligands were prepared using CHIMERA v. 13.1 suppressing all waste. The Lamarckian Genetic Algorithm (LGA) with global search and pseudo-Solis and Wets with local search, were the methods used in molecular docking. Each simulation consisted of 100 independent runs. The rest of the parameters were set to default values. **Results:** The main molecular interaction between the ligand and the receptor obtained $-7.05 \text{ kcal.mol}^{-1}$ of binding energy for the paromomycin, however the highest inhibition constant was obtained between the simulation of miltefosine with the receptor, obtaining $58.21 \mu\text{M}$ of inhibition constant. **Conclusion:** The results reveal a reduced efficacy of the four drugs tested in this study against Leishmaniasis, thus highlighting the need for novel bioactive antileishmania alternatives.

Descriptors: Leishmaniasis; Molecular Biology; Molecular Docking Simulation.

RESUMO

Objetivo: O objetivo deste trabalho foi realizar uma análise bioativa dos inibidores da *Leishmania major* Pteridine Reductase 1 (LmPTR1) através de estudos de acoplamento molecular *in silico*. **Método:** O receptor e os ligantes foram preparados usando CHIMERA v. 13.1 suprimindo todos os resíduos. O algoritmo genético lamarckiano (AGL) com busca global e pseudo-Solis e Wets com busca local foram os métodos utilizados no encaixe molecular. Cada simulação consistiu em 100 corridas independentes. O restante dos parâmetros foi definido para os valores padrão. **Resultados:** A principal interação molecular entre o ligante e o receptor obteve $-7,05 \text{ kcal.mol}^{-1}$ de energia de ligação para a paromomicina, porém a maior constante de inibição foi obtida entre a simulação de miltefosina com o receptor, obtendo $58,21 \mu\text{M}$ de constante de inibição. **Conclusão:** Os resultados revelam uma eficácia reduzida dos quatro medicamentos testados neste estudo contra a leishmaniose, destacando a necessidade de novas alternativas bioquímicas contra a leishmaniose.

Descritores: Leishmaniose; Biologia Molecular; Simulação de Acoplamento Molecular.

RESUMÉN

Objetivo: El objetivo de este trabajo fue realizar un análisis bioactivo de los inhibidores de *Leishmania major* Pteridine Reductase 1 (LmPTR1) mediante estudios de acoplamiento molecular *in silico*. **Método:** El receptor y los ligandos se prepararon usando CHIMERA v. 13.1 suprimiendo todos los desechos. El algoritmo genético lamarckiano (AGL) con búsqueda global y pseudo-Solis y Wets con búsqueda local, fueron los métodos utilizados en el acoplamiento molecular. Cada simulación consistió en 100 corridas independientes. El resto de los parámetros se establecieron en valores predeterminados. **Resultados:** La interacción molecular principal entre el ligando y el receptor obtuvo $-7.05 \text{ kcal.mol}^{-1}$ de energía de unión para la paromomicina, sin embargo, la constante de inhibición más alta se obtuvo entre la simulación de miltefosina con el receptor, obteniéndose $58.21 \mu\text{M}$ de constante de inhibición. **Conclusión:** Los resultados revelan una eficacia reducida de los cuatro medicamentos probados en este estudio contra la leishmaniasis, lo que pone de relieve la necesidad de nuevas alternativas bioactivas antileishmania.

Descriptor: Leishmaniasis; Biología Molecular; Simulación del Acoplamiento Molecular.

Como citar este artigo:

Araújo, JL, Bastos RS, Santos GT, Araújo JL, Rocha JA. Evaluation by molecular docking of inhibitors of the enzyme pteridine reductase 1 from *Leishmania major*. Rev Pre Infec e Saúde [Internet]. 2019;5:9056. Available from: <http://www.ojs.ufpi.br/index.php/nupcis/article/view/9056> doi: <https://doi.org/10.26694/repis.v5i0.9056>

INTRODUÇÃO

A leishmaniose é uma doença endêmica em mais de 98 países do mundo, com prevalência em áreas de climas tropicais e países subdesenvolvidos.¹ Embora estejamos no século XXI, doenças negligenciadas causam caos na saúde pública em vários países em desenvolvimento, devido à falta de saneamento básico e investimento do governo em ações preventivas contra o parasita. As estimativas anuais de incidência alcançam 2,5 milhões de casos, com mais de 350 milhões de pessoas residindo em áreas de risco.² A leishmaniose é causada por um parasita cinetoplastídeo da família Trypanosomatidae, pertencente ao gênero *Leishmania*.

No Brasil, os casos de leishmaniose são observados em quase todos os estados, com um crescimento gradual da incidência das duas formas de diagnóstico clínico: Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) e Leishmaniose visceral (LV). Esse crescimento está relacionado à falta de saneamento básico e à falta de medidas de controle adotadas pelo Ministério da Saúde, principalmente porque o LTA não possui uma alta taxa de mortalidade e não recebeu atenção de autoridades públicas como a LV, que apresenta uma taxa significativa. Ambas as infecções estão entre as dez doenças endêmicas mais perigosas do mundo pela Organização Mundial da Saúde (OMS).³ A taxonomia de *Leishmania* é bastante complexa, com trinta espécies de leishmaniose conhecidas, onde 21 espécies são capazes de causar infecção humana.⁴

Leishmania major é geralmente responsável pela infecção por leishmaniose

Avaliação de inibidores da enzima de *Leishmania* cutânea (LC), causa da infecção de 1 milhão de pessoas por ano.⁵ Ela se enquadra no quadro clínico do LTA e pode se apresentar de três maneiras distintas: LC, que causa feridas simples ou múltiplas, geralmente apresentando úlceras; Leishmaniose mucocutânea (LM), caracterizada pelo envolvimento das mucosas orais e nasais que são destruídas, causando deformações no indivíduo e podem estar associadas à LC; e, leishmaniose cutânea difusa (LCD), caracterizada por muitas feridas nodulares sem ulcerações.

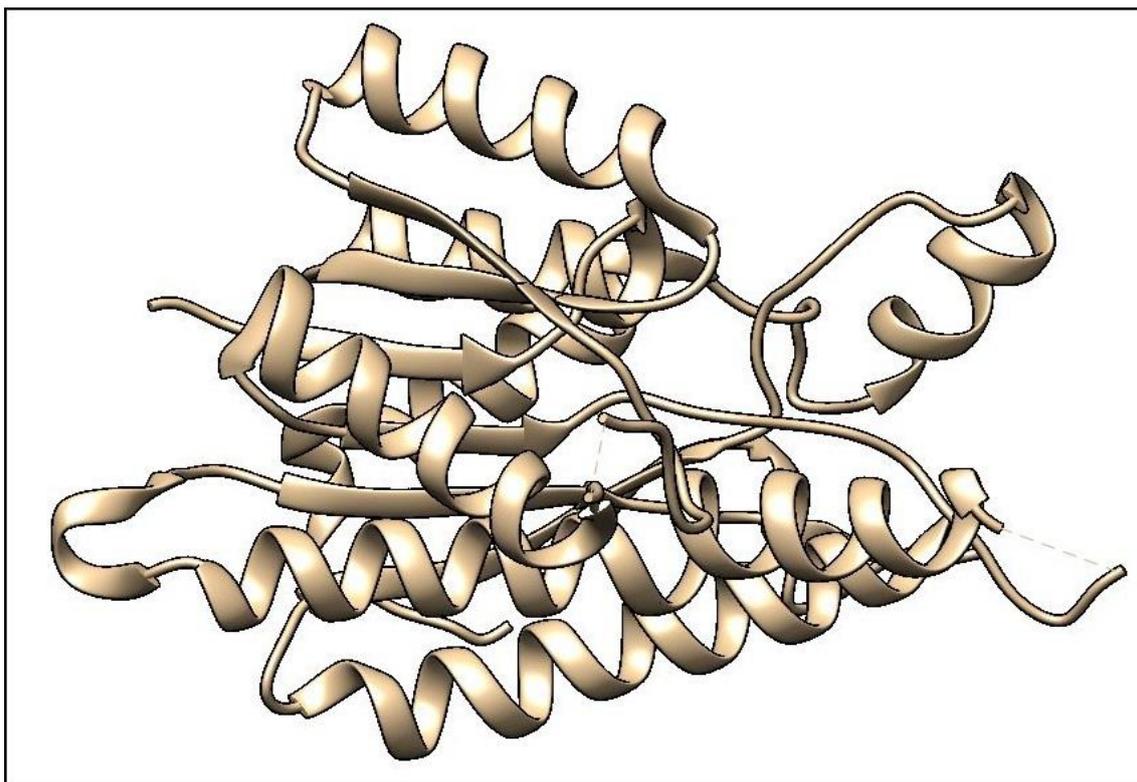
O tratamento da doença é composto por vários medicamentos, como isionato de pentamidina, miltefosina, paromomicina e ureia estibamina. Todos esses medicamentos são potencialmente tóxicos e geram vários efeitos colaterais para as pessoas em tratamento, além de terem uma eficácia reduzida contra cepas endêmicas, conforme identificado no Nepal, Brasil, Índia e África.⁶ Esses casos esclarecem a necessidade de buscar novos bioativos, como a avaliação de potenciais existentes para melhorar seu potencial biológico, por meio de estudos que medem suas taxas de inibições leishmanicidas.⁷

Uma alternativa para atingir esse objetivo é explorar alvos terapêuticos essenciais ao organismo parasita ou que sejam suficientes para causar inibição seletiva do organismo.⁸ As espécies de leishmaniose são autotróficas para as pteridinas, livres ou conjugadas, permitindo que o parasita use as pteridinas presentes no hospedeiro por uma via bioquímica.⁹ Portanto, organismos que fazem parte dessa via bioquímica de recuperação de folato se tornam alvos em estudos bioativos de novos compostos com potencial biológico.¹⁰

A pteridina redutase 1 (PTR1) realiza a redução catalítica da biopterina para 7,8-dihidrobiopterina, além de possibilitar a redução catalítica do folato ao tetra-hidrofolato, além de ter papel importante na metaciclologia das espécies de *Leishmania*.¹⁰ Tornando-o um alvo

Avaliação de inibidores da enzima de *Leishmania* atraente para estudos antileishmania. A Figura 1 mostra o modelo tridimensional de PTR1 de *L. major*. O objetivo deste trabalho é realizar uma análise bioativa dos inibidores da *L. major* Pteridine Reductase 1 (LmPTR1) através de estudos de acoplamento molecular *in silico*.

Figura 1: Modelo tridimensional da *Leishmania major* Pteridina Redutase 1.



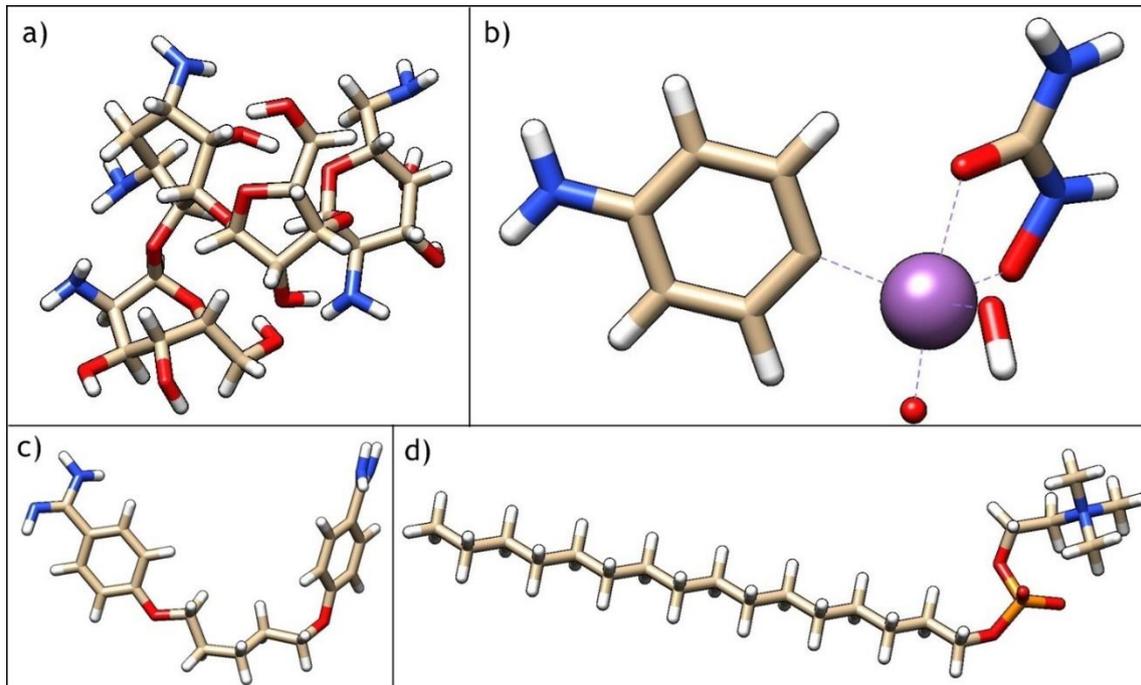
Fonte: Autor próprio, (2019).

MÉTODOS

A estrutura molecular do LmPTR1 em 3D foi obtida através do banco de dados do Protein Data Bank (PDB) com o código de identificação 5l42. O LmPTR1 foi preparado usando o software CHIMERA v.13.1, removendo todas as moléculas de água, íons e outros resíduos contidos na estrutura molecular, bem como a exclusão dos D, C e B, deixando apenas a cadeia A, para que os componentes moleculares testes de afinidade possam ser aplicados incisivamente.¹¹

As estruturas moleculares 2D dos fármacos Pentamidina, Miltefosina, Paromomicina e Ureia Estibamina foram obtidas do banco de dados PubChem e projetadas em 3D usando o software GaussView 5.0, após otimizações moleculares terem sido realizadas usando o software Gaussian 16 no meu © all Hartree-Fock Default Spin com base 6-31G ++ (d, p) para cada estrutura molecular dos ligantes (Figura 2).

Figura 2: Ligantes otimizados no método Hartree-Fock: a) Paramomicina; b) Ureia estibamina; c) Isionato de pentamidina; d) Miltefosina.



Fonte: Autor próprio, (2019).

O encaixe molecular foi realizado usando o programa Autodock Tools (ADT), versão 1.5.6.¹² O receptor foi considerado rígido, enquanto que cada ligante foi considerado flexível. As cargas parciais de Gasteiger foram calculadas após a adição de todo hidrogênio. Os átomos de hidrogênio não polares de proteínas e ligantes foram posteriormente misturados.

Uma caixa cúbica de 60x60x60 pontos foi gerada com uma resolução de 0,357 Å entre os pontos da grade para todo o alvo do receptor. O centro da grade de afinidade molecular foi definido a partir das coordenadas do aminoácido Asn109 da cadeia A. O Algoritmo Genético Lamarckiano (AGL) com pesquisa global e pseudo-Solis e Wets com pesquisa local foram os métodos utilizados no acoplamento molecular. Cada simulação consistiu em 100 corridas

independentes,¹³ o restante dos parâmetros foi definido como valores padrão.

A análise de afinidade molecular focou nos resultados de menor energia de ligação, taxa de constante de inibição e formação de ligações de hidrogênio. Esses dados são cruciais para avaliar a atividade biológica de um aglutinante em ação bioativa com um receptor através de simulação molecular, pois prevê em 95% de confiança o potencial que um aglutinante possui.¹⁴

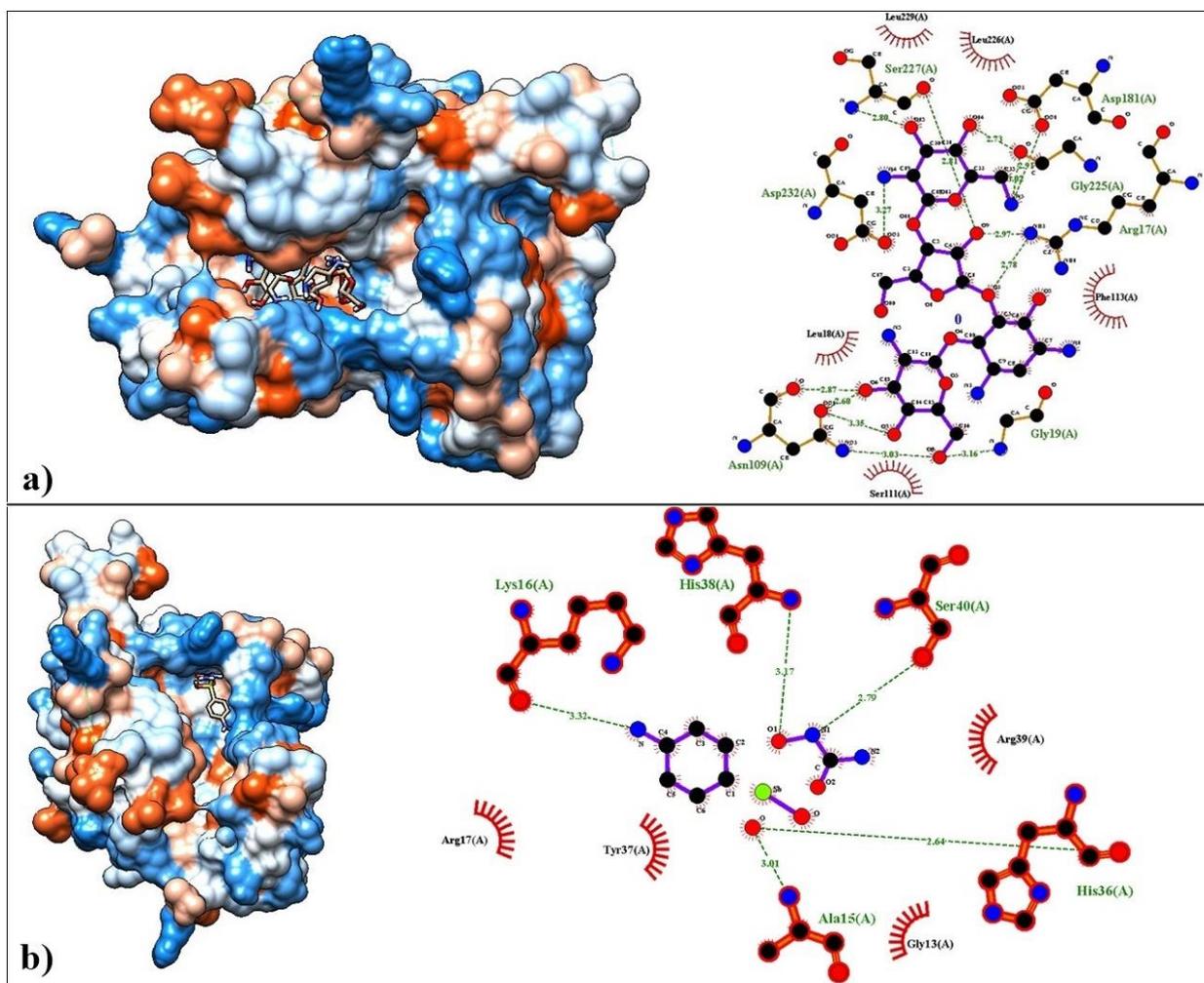
RESULTADOS

A interação molecular entre paramomicina e LmPTR1 obteve uma energia de ligação de -7,05 kcal.mol⁻¹, conforme apresentado na Tabela 1, e formou nove ligações de hidrogênio nos aminoácidos Arg17, Asn109, Asp181, Asp232,

Gly19, Gly225 e Ser227, onde aminoácidos Asp232 e Ser227 formam duas ligações de hidrogênio cada (Figura 3a). E no acoplamento molecular entre a ureia estibamina e o LmPTR1 obteve um resultado de $-6,13 \text{ kcal.mol}^{-1}$ de energia de ligação em seu parâmetro de afinidade molecular e obteve constante de inibição de $31,87 \mu\text{M}$ (Tabela 1), formando 6

Avaliação de inibidores da enzima de *Leishmania* ligações de hidrogênio nos aminoácidos Ala15, His36, His38, Lys16 e Ser40, duas ligações de hidrogênio sendo formadas em um único aminoácido (Ser40). Os aminoácidos Arg17, Arg39, Gly13 e Tyr37 realizam as conexões hidrofóbicas próximas à base do local ativo (Figura 3b).

Figura 3: Ancoragem molecular: a) paromomicina ligada ao sítio ativo de LmPTR1 e suas interações por ligações hidrofóbicas e hidrogênio; b) ureia estibamina ligada no sítio ativo de LmPTR1 e suas interações por ligações hidrofóbicas e ligações de hidrogênio entre seus aminoácidos.



Fonte: Autor próprio, (2019).

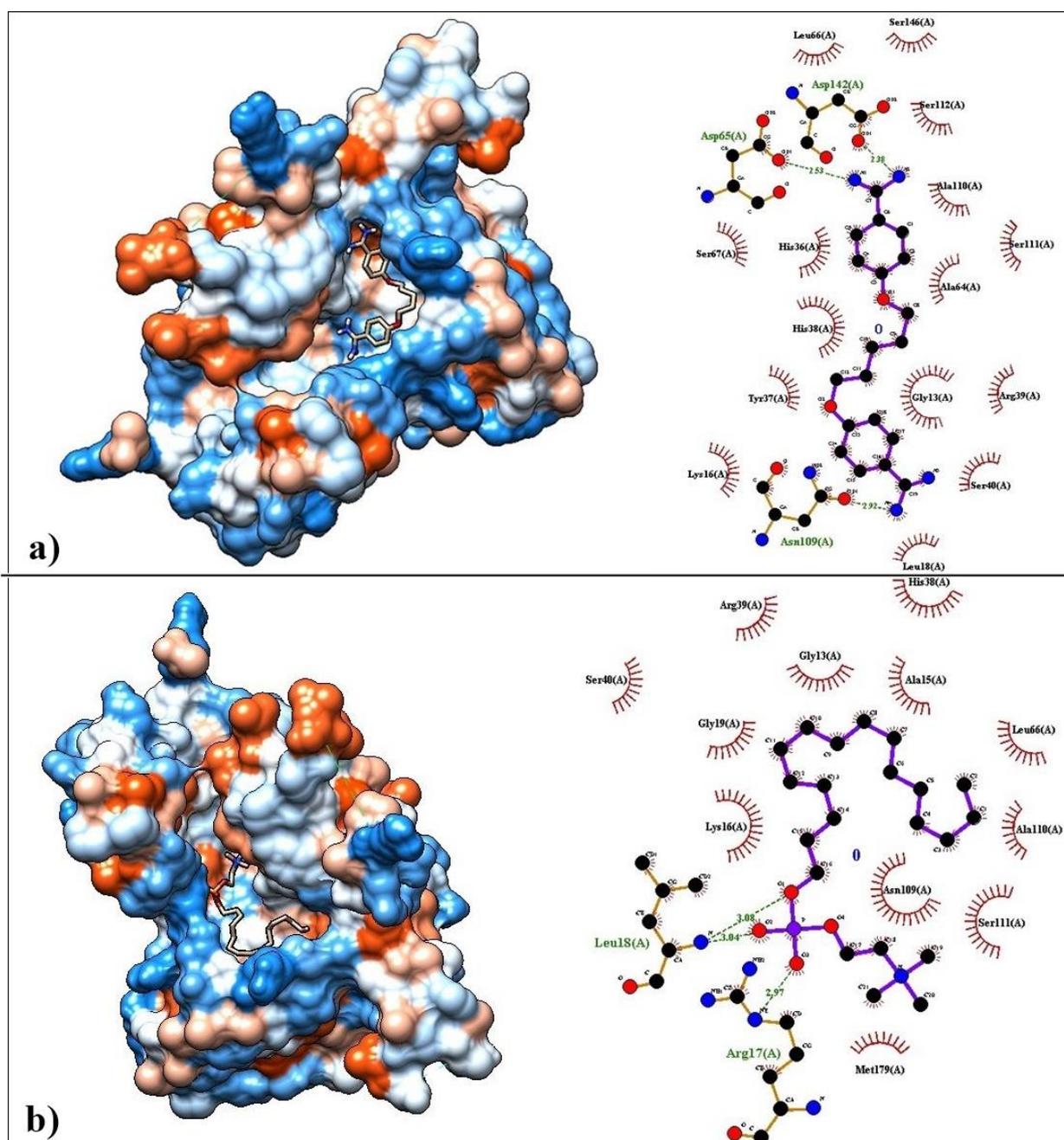
Já a interação molecular entre o isetonato de pentamidina e o LmPTR1 obteve uma taxa de $-6,5 \text{ kcal.mol}^{-1}$ de energia de

ligação, mostrando que o ligante possui boa afinidade molecular com o receptor. Essa interação resultou em uma constante de inibição

de 17,05 μM (Tabela 1). A interação entre as estruturas moleculares formou três ligações de hidrogênio, localizadas nos aminoácidos Asn109, Asp65 e Asp142, responsável por conter as interações mais intensas do complexo molecular, assim como podemos observar as interações e

Avaliação de inibidores da enzima de *Leishmania* distâncias de cada hidrogênio. conexão de ponte gerada. Os aminoácidos Ala110, Ala64, Arg39, Gly13, His36, His38, Leu18, Leu66, Lys16, Ser111, Ser112, Ser146, Ser40, Ser67 e Tyr37 realizam as interações hidrofóbicas (Figura 4a).

Figura 4: Acoplamento molecular: a) isonato de pentamidina ligado no sítio ativo da proteína LmPTR1 e suas interações, por ligações hidrofóbicas e por hidrogênio; b) Miltefosina ligada ao sítio ativo da proteína LmPTR1 e suas interações, por ligações hidrofóbicas e por hidrogênio entre aminoácidos.



Fonte: Autor próprio, (2019).

A miltefosina foi a droga que obteve a menor afinidade molecular com LmPTR1, com energia de ligação $-5,78 \text{ kcal.mol}^{-1}$, porém apresentou a maior taxa de inibição constante entre as drogas avaliadas neste estudo, obtendo

uma taxa de $58,21 \mu\text{M}$ (Tabela 1). A interação molecular entre o ligante e o receptor resultou em duas ligações de hidrogênio localizadas próximas ao local de ligação do LmPTR1, nos aminoácidos Arg17 e Leu18 (Figura 4b).

Tabela 1: Parâmetros de afinidade molecular entre LmPTR1 e fármacos: paromomicina; ureia estibamina; isonato de pentamidina e miltefosina.

Complexo (proteína-ligante)	ΔG_{bind}^a (kcal mol ⁻¹)	K_i^b (μM)	Número de corridas de salto independentes	Número de conformações no primeiro cluster	Aminoácidos que interagem através da ligação de hidrogênio	Aminoácidos que realizam interações hidrofóbicas
Paromomycin/ <i>LmPTR1</i>	-7,05	6,83	100	6	Arg17, Asn109, Asp181, Asp232, Gly19, Gly225, Ser227	Leu18, Leu226, Leu229, Phe113, Ser111
Urea stibamine/ <i>LmPTR1</i>	-6,13	31,87	100	4	Ala15, His36, His38, Lys16, Ser40	Arg17, Arg39, Gly13, Tyr37
Pentamidine isethionate/ <i>LmPTR1</i>	-6,5	17,05	100	6	Asn109, Asp65, Asp142	Ala110, Ala64, Arg39, Gly13, His36, His38, Leu18, Leu66, Lys16, Ser111, Ser112, Ser146, Ser40, Ser67, Tyr37
Miltefosine/ <i>LmPTR1</i>	-5,78	58,21	100	9	Arg17, Leu18	Ala110, Ala15, Arg39, Asn109, Gly13, Gly19, His38, Leu66, Lys16, Met179, Ser111, Ser40

DISCUSSÃO

Entre os fármacos avaliados, a paromomicina tem a melhor interação molecular com a proteína LmPTR1, mesmo sendo um fármaco utilizado para tratamentos do LV, observamos sua ação inibitória em uma proteína bastante importante no artigo de metaciclógênese da Leishmaniose do gênero *Leishmania* major, com uma taxa constante de inibição de $6,83 \mu\text{M}$. Uma

ação inibitória muito alta em comparação com alguns estudos na literatura.¹⁵ Mostrando que a paromomicina em reação com 6'-N-acetiltransferase tem uma taxa de inibição de $1,23 \mu\text{M}$, uma taxa abaixo da relatada na reação com LmPTR1. A imagem tridimensional que ilustra o encaixe molecular entre paromomicina e LmPTR1 é mostrada na Figura 3a.

A literatura apresenta a ureia estibamina como uma das melhores alternativas para o tratamento da leishmaniose, dentre elas a *L. donovani*.¹⁶ Quando comparamos os resultados da constante de inibição em diferentes espécies de *Leishmania*, notamos que a droga possui atividade de eficácia com LmPTR1, tendo uma constante de inibição de 31,87 μM , enquanto a mesma droga em reação com uma enzima de DNA de *L. donovani* tipo I da topoisomerase exibe uma constante de inibição de 40 μM .¹⁷ Isso está relacionado à afinidade molecular entre o ligante e a macromolécula, que além de possuir potencial bioativo antileishmania, possui boa afinidade molecular com o receptor. A diferença nas constantes de inibição entre os medicamentos pode estar relacionada à resistência das cepas e às características distintas de cada espécie de *Leishmania*. A imagem tridimensional que ilustra o encaixe molecular entre o scaffin de ureia e o LmPTR1 é mostrada na Figura 3b.

Estudos do potencial biológico do isetionato de antileishmania da pentamidina, por meio de ensaios *in vitro* em promastigotas e amastigotas de *L. donovani*, mostram uma inibição da ação de 8,31 μM para as formas promastigotas e 2,7 μM para formas amastigotas.¹⁸ Podemos observar que o mesmo medicamento indicado para os tratamentos LV tem atividade contra espécies de *L. major*. Através desses estudos *in silico* por acoplamento molecular, obtemos resultados favoráveis, mostrando o medicamento como uma possível alternativa contra espécies de *L. major*. Os estudos *in silico* apresentaram uma taxa de inibição constante superior aos valores

Avaliação de inibidores da enzima de *Leishmania* apresentados em um estudo *in vitro*, onde podemos observar a atividade biológica da mesma droga em diferentes espécies de *Leishmania*. A imagem tridimensional que ilustra o encaixe molecular do isetionato de pentamidina no local ativo de LmPTR1 é mostrada na Figura 4a.

A miltefosina foi a primeira droga oral aprovada na Índia, com uma taxa de eficácia de 94% nos tratamentos com *L. donovani*, mas essa taxa foi reduzida para 60%, o que está relacionado ao aumento da resistência de cepas e às características específicas do parasita.¹⁹ Estudos *in vivo* mostraram a eficácia reduzida do potencial inibitório da miltefosina no tratamento de camundongos infectados com cepas de *L. amazonenses* durante 100 dias de avaliação de leishmanicida usando 20 mg/kg/dia de miltefosina e a presença de amastigotas intracelulares amastigotas no organismo em 100 dias de tratamento, a sua eficácia só foi observada após 250 dias após o tratamento no organismo do rato, aumentando a concentração para 30, 40 e 50 mg/kg/dia. A cura clínica de camundongos infectados com cepas de *L. donovani* nas concentrações de 30, 40 e 50 mg/kg/dia após 250 dias de tratamento foi confirmada em análises de qPCR.²⁰

CONCLUSÃO

Evidenciou-se que os fármacos avaliados neste estudo apresentam eficácia reduzida nos tratamentos de *Leishmania sp*, isto está relacionado à resistência das cepas e às características distintas de cada espécie. Os fármacos que apresentaram resultados consideráveis de constante inibição contra

Araújo JL, et al.

espécies de *Leishmania major* foram a ureia de stibamina com 31,87 µM e a miltefosina com constante de inibição de 58,21 µM, apresentando-os como possíveis alternativas nos tratamentos de espécies de *Leishmania major* e não sendo aplicados apenas nos tratamentos de LV.

Com esses resultados, enfatizamos a necessidade de buscar novas alternativas de compostos bioativos antileishmania, sejam eles

Avaliação de inibidores da enzima de *Leishmania* providos de recursos naturais ou sintéticos. Também enfatizamos a importância de estudos de planejamento racional de medicamentos já disponíveis e disponíveis na indústria, realizando estudos que preveem locais em estruturas químicas que podem ser modificadas ou substituídas por outras cadeias ou compostos orgânicos para aumentar ainda mais seu potencial biológico.

REFERÊNCIAS

1. Alvar J, Vélez I, Berna C, Herrero M, Desjeux P, Cano J, et al. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. PloS one [Internet]. 2012 [cited 2019 May 16]; 7(5):1-9. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035671>
2. Queiroz MJA, Alves JGB, Correia JB. Leishmaniose visceral: características clínico-epidemiológicas em crianças de área endêmica. J Pediatr [Internet]. 2004 [cited 2019 May 16]; 80(2):141-146. Available from: <http://dx.doi.org/10.1590/S0021-75572004000200012>
3. Dujardin JC. Risk factors in the spread of leishmanioses: towards integrated monitoring. Trend Parasitol [Internet]. 2006 [cited 2019 May 16]; 22(1):4-6. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.pt.2005.11.004>
4. Ashford RW. The Leishmaniasis as emerging and reemerging zoonoses. International Journal for Parasitology [Internet]. 2000 [cited 2019 May 18]; 30:1269-1281. Available from: [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(00\)00136-3](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(00)00136-3)
5. Bennis I, Brouwere V, Ameer B, Laamrani AE, chichaoui S, Hamid S, et al. Control of cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania major* in South-eastern Morocco. Trop Med Int Health [Internet]. 2015 [cited 2019 May 18]; 20(10):1297-1305. Available from: <https://doi.org/10.1111/tmi.12543>
6. Sundar S, Chakravarty J. Antimony toxicity. Int. J. Environ. Res. Public Health [Internet]. 2010 [cited 2019 May 18]; 7(12):4267-4277. Available from: <https://doi.org/10.3390/ijerph7124267>
7. Tiunan TS, Santos AO, Ueda-Nakamura T, Filho BPD, Nakamura CV. Recent advances in leishmaniasis treatment. Int J Infect Dis [Internet]. 2011 [cited 2019 May 18]; 15(8):525-532. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2011.03.021>
8. Azevedo WF, SOARES MBP. Selection of targets for drug development against protozoan parasites. Curr Drug Targets [Internet]. 2009 [cited 2019 May 19]; 10(3):193-201. Available from: <https://doi.org/10.2174/138945009787581186>
9. Kumar P, Kumar A, Verma SS, Dwivedi N, Singh N, Siddiqi MI, et al. *Leishmania donovani* pteridine reductase 1: biochemical properties

Araújo JL, et al.

and structure-modeling studies. *Exp. Parasitol* [Internet]. 2008 [cited 2019 May 19]; 120(1):73-79. Available from:

<https://doi.org/10.1016/j.exppara.2008.05.005>

10. Cunningham ML, Beverley SM. Pteridine salvage throughout the *Leishmania* infectious cycle: implications for antifolate chemotherapy. *Mol Biochem Parasitol* [Internet]. 2001 [cited 2019 21]; 113(2):199-213. Available from:

[https://doi.org/10.1016/S0166-6851\(01\)00213-4](https://doi.org/10.1016/S0166-6851(01)00213-4)

11. Pettersen EF, Goddard TD, Huang CC, Couch GS, Greenblatt DM, Meng EC, et al. UCSF Chimera-a visualization system for exploratory research and analysis. *J Comput Chem* [Internet]. 2004 [cited 2019 May 21]; 25:1605-1612. Available from:

<https://doi.org/10.1002/jcc.20084>

12. Morris GM, Huey R, Olson AJ. Using AutoDock for ligand-receptor docking. *Curr. Protoc. Bioinformatics* [Internet]. 2008 [cited 2019 May 21]; 24(1):8.141-8.1440. Available from:

<https://doi.org/10.1002/0471250953.bi0814s24>

13. Ramos RM, Perez JM, Baptista LA, Amorim HLN. Interaction of wild type, G68R and L125M isoforms of the arylamine-N-acetyltransferase from *Mycobacterium tuberculosis* with isoniazid: a computational study on a new possible mechanism of resistance. *J Mol Model* [Internet]. 2012 [cited 2019 May 21]; 18(9):4013-4024. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00894-012-1383-6>

14. Rocha JA, Rego NCS, Carvalho BTS, Silva FI, Sousa JA, Ramos RM, et al. Computational quantum chemistry, molecular docking, and ADMET predictions of imidazole alkaloids of *Pilocarpus microphyllus* with schistosomicidal properties. *PloS one* [Internet]. 2018 [cited 2019

Avaliação de inibidores da enzima de *Leishmania* may 22]; 13(6):1-9. Available from:

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0198476>

15. Zhu L, Liu R, Liu T, Zou X, Xu Z, Guan H. A novel strategy to screen inhibitors of multiple aminoglycoside-modifying enzymes with ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight mass spectrometry. *J Pharm Biomed Anal* [Internet]. 2019 [cited 2019 May 22]; 164:520-527. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2018.11.021>

16. Chakraborty AK, Majumder HK. Mode of action of pentavalent antimonials: Specific inhibition of type I DNA topoisomerase of *Leishmaniadonovani*. *Biochem. Biophys. Res. Commun* [Internet]. 1988 [cited 2019 May 24]; 152(2):605-611. Available from:

[https://doi.org/10.1016/S0006-291X\(88\)80081-0](https://doi.org/10.1016/S0006-291X(88)80081-0)

17. Riou G, Douc-rasy S, Kayser A. Inhibitors of trypanosome topoisomerases. *Biochem Soc Trans* [Internet]. 1986 [cited 2019 May 24]; 14(2):496-499. Available from:

<https://doi.org/10.1042/bst0140496>

18. Ashok P, Chander S, Smith TK, Singh RP, Jha PN, Sankaranarayanan M. Biological evaluation and structure activity relationship of 9-methyl-1-phenyl-9H-pyrido [3, 4-b] indole derivatives as anti-leishmanial agents. *Bioorg Chem* [Internet]. 2019 [cited 2019 May 24]; 84:98-105. Available from:

<https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2018.11.037>

19. Carnielli JBT, Crouch K, Forrester S, Silva VC, Carvalho SFG, Damasceno JD, et al. A *Leishmania infantum* genetic marker associated with miltefosine treatment failure for visceral leishmaniasis. *EBioMedicine* [Internet]. 2018 [cited 2019 May 25]; 36:83-91. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2018.09.029>

20. Godinho JLP, Rodrigues CS, Silva R, Urmenyi TP, Souza W, Rodrigues JCF. Efficacy of miltefosine treatment in *Leishmania amazonensis*-infected BALB/c mice. *Int J*

Antimicrob Agents [Internet]. 2012 [cited 2019 May 25]; 39(4):326-331. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2011.11.008>

Submetido: 2019-06-26

Aceito: 2019-08-12

Publicado:2019-11-01

COLABORAÇÕES

AAC: Contribuições substanciais na concepção e design da pesquisa; análise e interpretação de dados; na revisão crítica do artigo e na versão final a ser publicada. JLA, RSB, GTS, JLA e JAR: contribuições substanciais para a coleta, análise e interpretação de dados; na redação do artigo; e na versão final a ser publicada. Todos os autores concordam e são responsáveis pelo conteúdo desta versão do manuscrito a ser publicado.

AGRADECIMENTOS

Não se aplica.

DISPONIBILIDADE DOS DADOS

Não se aplica.

FONTE DE FINANCIAMENTO

Não se aplica.

CONFLITOS DE INTERESSE

Sem conflitos de interesses a declarar.

CORRESPONDÊNCIA

Joabe Lima Araújo

Endereço: Aurila Maria Santos Barros de Sousa, s/n, Loteamento Frei Alberto Beretta, Grajaú - MA, CEP: 65940-000, Brasil.

Telefone: +55 (99) 99953-9446

E-mail: joabearaujobiotec@gmail.com