

**Análise “in silico” da hidroxicloroquina e de compostos obtidos através de sua
modificação molecular**

**In silico" analysis of hydroxychloroquine and compounds obtained through its
molecular modification**

**Análisis "in silico" de hidroxicloroquina y compuestos obtenidos a través de su
modificación molecular**

Recebido: 06/08/2020 | Revisado: 20/08/2020 | Aceito: 21/08/2020 | Publicado: 26/08/2020

Jeremias Morais Ribeiro

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3019-5008>

Centro Universitário Santo Agostinho, Brasil

E-mail: jere.morais69@gmail.com

Wanderson Freitas Costa Sousa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7777-5352>

Centro Universitário Santo Agostinho, Brasil

E-mail: wandersonfreitas29@outlook.com

Joubert Aires de Sousa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3830-4988>

Universidade Luterana do Brasil, Brasil

E-mail: airesjoubert3@gmail.com

Resumo

O presente trabalho tem como objetivo avaliar “in silico” a hidroxicloroquina e seus análogos obtidos e fazer um estudo comparativo entre eles, levando em consideração os parâmetros farmacocinéticos, farmacodinâmicos e toxicológicos. Na análise farmacocinética e toxicológica utilizou-se o servidor online PreADMET para realizar predições com base na estrutura da molécula e na análise farmacodinâmica foi utilizado outro servidor online o Swiss TargetPrediction onde foram observados os alvos que as moléculas se ligaram e qual a probabilidade de ligação. De acordo com as predições que foram feitas podemos constatar que os dois análogos se apresentaram um pouco melhores que a hidroxicloroquina. Em relação à farmacocinética o análogo JW 01 apresentou uma velocidade de absorção (Caco2) melhor que o protótipo e não inibição de enzimas do citocromo P450. Na farmacodinâmica os dois análogos se apresentaram com perfil melhor que o protótipo, sendo que JW 01 apresentou

probabilidades de ligações menores com alguns receptores e a JW 02 não se ligou a nenhum deles. Na toxicologia as moléculas apresentaram mutagenicidade e nem carcinogenicidade, no risco de inibição do gene hERG apresentaram médio risco, e o análogo JW 02 se apresentou menos tóxico que as demais moléculas nos ensaios com animais marinhos.

Palavras-chave: Farmacocinética; Farmacodinâmica; Hidroxicloroquina; Toxicologia.

Abstract

The present work aims to evaluate "in silico" hydroxychloroquine and its analogs obtained and make a comparative study between them, taking into account the pharmacokinetic, pharmacodynamic and toxicological parameters. In the pharmacokinetic and toxicological analysis, the online server PreADMET was used to make predictions based on the structure of the molecule and in the pharmacodynamic analysis, another online server was used, the Swiss TargetPrediction where the targets that the molecules were linked to and the probability of binding were observed. According to the predictions that were made, we can see that the two analogs were slightly better than hydroxychloroquine. Regarding pharmacokinetics, the analogue JW 01 showed an absorption rate (Caco2) better than the prototype and no inhibition of cytochrome P450 enzymes. In pharmacodynamics, the two analogs presented a better profile than the prototype, with JW 01 presenting lower link probabilities with some receptors and JW 02 did not bind to any of them. In toxicology the molecules showed mutagenicity and no carcinogenicity, in the risk of inhibition of the hERG gene they presented medium risk, and the analogue JW 02 was less toxic than the other molecules in the tests with marine animals.

Keywords: Pharmacokinetics; Pharmacodynamics; Hydroxychloroquine; Toxicology.

Resumen

El presente trabajo tiene como objetivo evaluar la hidroxicloroquina "in silico" y sus análogos obtenidos y hacer un estudio comparativo entre ellos, teniendo en cuenta los parámetros farmacocinéticos, farmacodinámicos y toxicológicos. En el análisis farmacocinético y toxicológico, el servidor en línea PreADMET se usó para hacer predicciones basadas en la estructura de la molécula y en el análisis farmacodinámico, se usó otro servidor en línea, la Swiss TargetPrediction, donde se observaron los objetivos a los que se vincularon las moléculas y la probabilidad de unión. Según las predicciones que se hicieron, podemos ver que los dos análogos fueron ligeramente mejores que la hidroxicloroquina. Con respecto a la farmacocinética, el análogo JW 01 mostró una tasa de absorción (Caco2) mejor que el

prototipo y no inhibió las enzimas del citocromo P450. En farmacodinámica, los dos análogos presentaron un mejor perfil que el prototipo, con JW 01 presentando probabilidades de enlace más bajas con algunos receptores y JW 02 no se unió a ninguno de ellos. En toxicología, las moléculas mostraron mutagenicidad y sin carcinogenicidad, en el riesgo de inhibición del gen hERG presentaron riesgo medio, y el análogo JW 02 fue menos tóxico que las otras moléculas en las pruebas con animales marinos.

Palabras clave: Farmacocinética; Farmacodinámica; Hidroxicloroquina; Toxicología.

1. Introdução

A hidroxicloroquina (HCQ) é um análogo da cloroquina (CQ) no qual um dos substituintes N-etil da cloroquina é β -hidroxilado. Em meados da década de 50, o sulfato de HCQ mostrou perfil de utilização mais satisfatório devido a menor toxicidade ocular, comparada com a cloroquina, após um extenso programa de cooperação para a pesquisa de antimaláricos nos Estados Unidos durante o período da 2ª Guerra Mundial e nessa época, a primaquina era largamente utilizada pelo exército norte-americano para a profilaxia da malária. Paralelamente, estudos sugeriram possível eficácia em condições reumatológicas da primaquina e seus derivados, e com isso teve-se a base das informações sobre a utilização desses compostos como agente terapêutico para artrite reumatoide (AR) e lúpus eritematoso sistêmico (LES) e discoide (LED), (Semeniuk, et al., 2008).

Usado como antimalárico e possui propriedades anti-inflamatórias, com ação esquizonticida e gametocida, eficaz contra a forma eritrocítica dos agentes etiológicos da malária: *Plasmodium vivax* e *Plasmodium malariae*, além de grande parte das cepas do *Plasmodium falciparum* e ao ser empregado no lúpus eritematoso sistêmico e na artrite reumatoide tornou-se um componente padrão de terapia para pacientes com estas doenças após estudos de longo prazo demonstrou bons resultados em termos de danos a órgãos e de sobrevida global dos pacientes. (OLSEN et al., 2013). É amplamente distribuída no tecido muscular, fígado, baço, rins, pulmões, glóbulos, hipófise e glândulas suprarrenais e tecidos contendo melanina. Seu metabolismo é hepático e sua excreção é renal. Sua meia-vida de eliminação é de 30 a 50 dias, e o tempo que leva para começar a fazer seu efeito anti-inflamatório é de 4 a 6 semanas, e a nível do fígado há possível interação com o tabagismo, pois é bem conhecido que o tabaco é um indutor do CYP450, que sugere que ele pode diminuir o efeito do HCQ (Danza et al. 2016).

Como medicamento antimalárico apresenta ação esquizonticida e gametocida, mas

como imunossupressora a HCQ não tem seu mecanismo totalmente elucidado, acredita-se que ela suprime o processamento de antígeno intracelular e o carregamento de peptídeos nas moléculas MHC de classe ao aumentar o pH dos compartimentos lisossomal e endossomal, diminuindo, assim, a ativação da célula T e também há diminuição da quimiotaxia dos leucócitos, estabilização das enzimas lisossomais, inibição da síntese de DNA e RNA e captação de radicais livres (Lacava, 2010).

O novo coronavírus (SARS-CoV-2) causador doença COVID-19, foi detectado pela primeira vez em 31 de dezembro de 2019, em Wuhan, China e é responsável por uma pandemia mundial, atingindo, quase todos os países do globo terrestre e devido a essa emergência global na saúde o uso de fármacos já existentes é a opção mais confiável para encontrar uma terapia eficiente para as pessoas infectadas, sem demora visto que o desenvolvimento de uma nova droga iniciando do zero requer muita pesquisa e a hidroxicloroquina é uma dessas alternativas (Devaux et al., 2020).

Em relação ao seu mecanismo de ação da CQ e da HCQ na COVID-19, acredita-se que eles agem impedindo a glicosilação terminal da ECA-2 que atua com receptor de membrana para SARS-COV-2, então eles podem impedir ligação do vírus agindo diretamente no seu alvo e devido a uma característica importante dos coronavírus humanos, que é a dependência de glicoproteínas e gangliosídeos contendo ácido siálico que atuam como fatores primários de fixação ao longo do trato respiratório, também foi identificado um local de ligação aos gangliosídeos no domínio N-terminal (NTD) da glicoproteína spike (S) do SARS-CoV-2 e esses fármacos demonstraram ser um potente bloqueador da interação S-gangliosídeo que ocorre na primeira etapa do ciclo de replicação viral (Fatini, et.al, 2020).

Os efeitos adversos são desconforto gastrointestinal, prurido agudo e pigmentação cutânea, cardiomiopatia, intervalo QT prolongado no ECG, torsades de pointes, arritmia ventricular, taquicardia ventricular hipoglicemia grave (Colson et al. 2020). Porém o efeito mais temido é a retinopatia, associando-se a perda visual irreversível, potencialmente progressiva que ocorre mesmo após a suspensão do fármaco. Isso ocorre quando a HCQ permanecer ligada à melanina do epitélio pigmentado da retina (EPR) durante um longo período de tempo ou, mais provavelmente, através de um efeito de desequilíbrio metabólico dos fotorreceptores, sendo que quanto maior a duração da exposição tóxica, maior a probabilidade de estas células eventualmente descompensarem e acabarem por morrer (Gameiro Filho et al., 2018).

Dois pontos importantes marcam a história da Química Medicinal, o desenvolvimento de diversos conceitos e substâncias bioativas, um exemplo é a descoberta do ácido

acetilsalicílico (AAS) pelo alemão Felix Hoffmann, e o modelo fundamental de “chave e fechadura” no estudo de biorreceptores postulado por Emil Fisher. Nos dias atuais, a química medicinal é importante em todas as fases de desenvolvimento de fármacos, desde a fase de isolamento do composto biologicamente ativo, até os estudos dos mecanismos farmacocinéticos e farmacodinâmicos (Mikovski et al., 2018).

Atualmente, a maior parte dos fármacos de uso clínico é de origem natural, biotecnológica ou sintetizada quimicamente. Para realizar a síntese química é feita modificações moleculares nos compostos, com a finalidade de gerar um novo composto menos tóxico ou com maior atividade biológica (Halligudi et al., 2017). Define-se como modificação molecular a alteração química de um composto conhecido e previamente caracterizado visando melhorar sua utilidade como droga, podendo aumentar a sua especificidade para um determinado alvo farmacológico, melhorando sua taxa e extensão de absorção aumentando sua potência, reduzindo sua toxicidade, alterando suas propriedades físicas ou químicas para fornecer os resultados desejados (Santos et al., 2018).

Em 1997 o pesquisador escocês chamado Christopher Andrew Lipinski estabeleceu uma polêmica regra para o planejamento de novos fármacos, que foi denominada como “regra de Lipinski”. O autor postula que os fármacos para terem alta atividade farmacológica e alta absorção devem cumprir esses requisitos: ter até cinco centros doadores de ligação de hidrogênio, até dez aceptores de ligação de hidrogênio, peso molecular ser de até 500 unidades e o Log P calculado ser menor do que 5. Esta análise geral feita por Lipinski evidencia a importância da lipofilia na atividade farmacológica e no planejamento racional de qualquer fármaco (Mikovski et al., 2018).

Com base nisto o presente trabalho tem como objetivo avaliar “in silico” a hidroxicloroquina e seus análogos obtidos, além de fazer um estudo comparativo entre eles, levando em consideração os parâmetros farmacocinéticos, farmacodinâmicos e toxicológicos.

2. Metodologia

Trata-se de uma pesquisa experimental, com abordagem qualitativa, quantitativa e explicativa, baseando-se na análise das características farmacocinéticas, farmacodinâmicas e toxicológicas da hidroxicloroquina e de seus análogos desenvolvidos, através da utilização de softwares de Química Farmacêutica Medicinal. Por meio das bases de dados como Literatura Latino Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), Portal de Pesquisa da BVS, Scientific Eletronic Library Online (SciELO) e PubMed (National Library of Medicine and

National Institute of Health – USA) realizou-se um levantamento bibliográfico para o aperfeiçoamento das análises dos resultados, das possíveis hipóteses e justificativas. (Pereira et al., 2018).

Inicialmente utilizando o software ACD/ChemSkech versão 14.0, de maneira prévia, realizou-se o desenho das estruturas moleculares da hidroxicloroquina e dos seus análogos desenvolvidos. Logo após foi realizada a otimização estrutural destas moléculas segundo parâmetros da mecânica clássica (ângulo, ângulo diedro e distância de ligação), para tornar os resultados obtidos com as análises posteriores mais próximos da realidade. Em seguida as moléculas foram salvas em formato (mol) para que pudessem ser utilizadas nas análises posteriores (Santos et al., 2018).

Para a análise farmacocinética e toxicológica, foi utilizado o servidor online PreADMET (ADMET, na sigla em inglês para absorption, distribution, metabolism, excretion and toxicity), essa ferramenta realiza as análises tendo como base a relação estrutura-atividade das moléculas disponíveis em diversos bancos de dados mundiais. Do ponto de vista farmacocinético avaliam-se os indicadores principais (absorção, distribuição, metabolismo e excreção), já na parte de avaliação toxicológica realizaram-se predições de diversos parâmetros como (mutagenicidade, carcinogenicidade e risco cardíaco). Os resultados obtidos foram expressos em quadros (Santos et al., 2018).

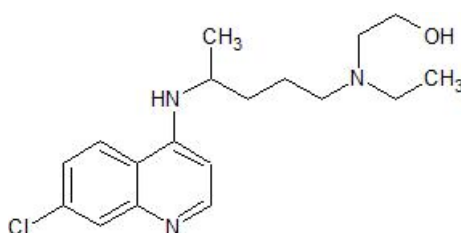
Para a análise farmacodinâmica foi utilizado o servidor online Swiss TargetPrediction, onde foi feita uma busca de alvos que da hidroxicloroquina e seus análogos desenvolvidos, em seguida foi verificado os alvos de interesse (Santos et al., 2018).

3. Resultados e Discussão

3.1 Modificação molecular

Em alguns casos, a alteração das propriedades físico-químicas em função de modificações estruturais de um fármaco pode alterar seu mecanismo de interação com a biofase. As modificações moleculares feita a partir da hidroxicloroquina (Figura 1), sendo seus análogos JW01 (Figura 2) e JW 02 (Figura 3).

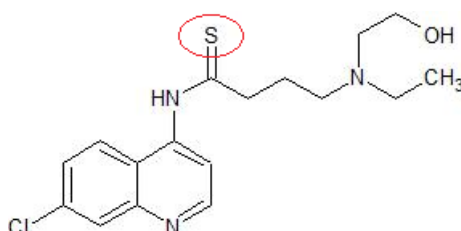
Figura 1. Representação estrutural da hidroxiclороquina.



Fonte: Autores (2020).

A hidroxiclороquina é uma base anfifílica fraca em dois anéis aromáticos fundidos com ligações duplas conjugadas ao núcleo 4-aminoquinolinas, diferencia-se da cloroquina devido a adição de uma hidroxila (OH) na sua molécula.

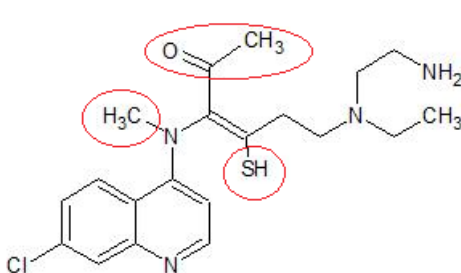
Figura 2. Representação estrutural do análogo JW 01.



Fonte: Autores (2020).

A modificação realizada na molécula JW 01 foi realizada uma substituição de grupamento metil (CH₃) por um átomo de enxofre (S), com maior polarizabilidade e promove na maioria das vezes rápida metabolização do fármaco (Santos et al., 2018).

Figura 3. Representação estrutural do análogo JW 02.



Fonte: Autores (2020).

Na molécula JW02 teve adição de uma amina primária (NH₂), substituindo OH (hidroxila) pode levar a uma grande mudança nos valores de pKa para uma determinada substância, alterando locais de absorção devido aos diferentes valores de pH que podem ser encontrados nos diferentes compartimentos do corpo, como estômago (pH = 1) e intestino

(pH = 6), e dinâmica de distribuição no organismo, já os ésteres são grupamentos lipofílicos e surgem como promissores pró-fármacos para o transporte e liberação controlada do princípio ativo., com atividade antitumoral e por último a sulfidril, altamente polarizável, tornando-o um bom nucleófilo para reações com compostos químicos eletrofílicos. (Santos, 2008).

3.2 Análise farmacocinética e toxicológica.

A avaliação das propriedades farmacocinética e toxicológica (ligação as proteínas plasmáticas, inibição das enzimas do citocromo P450 (CYP), mutagenicidade, carcinogenicidade, dentre outros parâmetros) decorreu por meio da aplicação ADME (na sigla em inglês para absorption, distribution, metabolism and excretion) disponibilizando informações acerca de parâmetros cruciais para a avaliação e comparação da atividade dos fármacos protótipo e análogos. Possibilitando uma visualização do perfil de interação entre macro e micromolécula. Como descrito, os resultados obtidos na aplicação estão divididos em farmacocinéticos (Quadro 1) e toxicológicos (Quadro 2).

Quadro 1. Parâmetros farmacocinéticos da hidroxicloroquina e seus análogos.

Parâmetro	Hidroxicloroquina	JW 01	JW 02
BBB	2,28794	0.350976	0.0832389
Buffer_solubility_mg_L	12,9119	54,3402	16211,9
Caco2	46,0839	48,7695	41,7101
Inibição do CYP_2C19	Não	Não	Não
Inibição do CYP_2C9	Não	Não	Não
Inibição do CYP_2D6	Inibidor	Não	Inibidor
Substrato do CYP_2D6	Substrato	Substrato	Substrato
Inibição do CYP_3A4	Não	Não	Não
Substrato do CYP_3A4	Substrato	Não	Fracamente
HIA	94,660945	95,927393	97,680561
MDCK	45,1085	35,3693	9,03026
Inibidor da Pgp	Não	Não	Não
Ligação às proteínas plasmáticas	88,996812	77,79428	56,299068
Pure_water_solubility_mg_L	224,786	138,717	3,59729
Skin_Permeability	-3,08546	-3,39689	-3,36625
SKlogD_value	2,05849	1,36948	2,17712
SKlogP_value	3,62295	2,93394	3,51622
SKlogS_buffer	-4,41519	-3,81129	-1,39973
SKlogS_pure	-3,17441	-3,40428	-5,05359

Fonte: PREADMET (2020).

O Quadro 1 mostra as predições farmacocinéticas do protótipo (hidroxicloroquina) e

dos análogos (JW01 e JW02). Processo obtido através de uma inspeção matemática, contabilizando o tempo dos processos de absorção, distribuição, metabolização e excreção. Entre os indicadores farmacocinéticos, foram avaliados os seguintes parâmetros: BBB (blood-brain barrier) que prever se os compostos passam através da barreira hematoencefálica, velocidade de absorção dos fármacos (Caco2), taxa de absorção pelas células intestinais humanas (HIA) e excreção (MDCK).

O BBB (blood-brain barrier) corresponde a barreira hematoencefálica, estrutura que dificulta a passagem de substâncias do sangue para o sistema nervoso central, tais como anticorpos, fatores de coagulação e medicamentos. A BHE é formada por células endoteliais que ficam alinhadas em conjunto com os capilares, impedindo ou dificultando a passagem de substâncias do sangue para o tecido nervoso (Vieira e Sousa, 2013). Os aspectos que restringem a penetração de fármacos no cérebro são a sua massa molecular, o coeficiente de partição, a constante de ionização a pH fisiológico e o número de ligações de hidrogénio que a molécula pode estabelecer (Burgess e Hynynen, 2013). Vários estudos padronizam os valores de penetração da seguinte forma: $>2,0$ atravessa livremente a BHE, entre 0,1 e 2-0 atravessa moderadamente e $<0,1$ atravessa de forma reduzida podendo não realizar a travessia. A passagem substâncias pela BHE é desejada somente em fármacos que atuam no sistema nervoso central, o que não é esperado para os análogos desenvolvidos. Os resultados obtidos identificaram na molécula JW01 o valor de 0.350976 e na JW02 o valor de 0.0832389, classificadas como substancia de passagem moderada e reduzida respectivamente, comparadas a hidroxicloroquina que possui 2,28794, possuindo travessia de forma livre. Como esperado, houve uma diminuição considerável dos valores, possibilitando uma possível redução dos efeitos adversos decorridos da passagem do fármaco pela BHE.

Prosseguindo com a farmacocinética (Quadro 1) a avaliação da permeabilidade avaliada pelos indicadores CaCo2 e MDCK. Caco2, são células derivadas do adenocarcinoma do cólon humano e possuem várias vias de transporte de drogas através do epitélio intestinal. Com método in vitro facilita a seleção de grandes bibliotecas de compostos para avaliar a absorção oral. Baseados em células humanas, tem sido larga e eficientemente usado nos estudos de permeabilidade intestinal. Podendo ser utilizado para avaliar a absorção por transporte passivo através do citoplasma das células (transcelular) ou entre as junções celulares (paracelular), e por transporte ativo mediado por um transportador (por exemplo, P-gp) (CLARK, M.A. et al, 2012). De acordo com a literatura tanto para Caco2 quanto MDCK, a permeabilidade é classificada da seguinte forma: baixa ($< 4\text{nm/s}$), média (entre 4 e 70 nm/s) e alta ($> 70\text{nm/s}$). Mediante a classificação definida, os resultados constataram que todas as

moléculas apresentam média permeabilidade e a JW01 apresentou a permeabilidade mais alta entre todas. O MDCK (Madin-Darby canine kidney) são originárias de rim canino e passam por diferenciação em células epiteliais colunares com membranas semipermeáveis quando cultivadas, por essa razão, são utilizadas para avaliação da permeabilidade in vitro de novos compostos, fisiologia tubular distal renal, abrangendo o transporte íons Na⁺ e Cl⁻ que passam por um processo de filtração nos rins e cerca de 5 a 10% de sua reabsorção é regulada por co-transportadores (Fani et al, 2018). De acordo com os valores apresentados no Quadro 1 foi comprovado que todas as moléculas estão classificadas com permeabilidade média e a hidroxicloroquina foi a maior entre todas.

O processo de metabolização foi avaliado a capacidade de inibição, não inibição e formação de substrato pelas moléculas (protótipos e análogos) através de seu comportamento sobre as subfamílias do CYP450, os fármacos interagem com as isoformas CYP de três formas principais: como substratos, sendo sujeitos as reações de oxidação, hidroxilação, redução e hidrólise, levando a metabólitos mais facilmente excretados pelo organismo; como inibidores, impedindo o metabolismo de substratos; ou como indutores, estimulando o metabolismo de substratos (MODA,2011). Dentre suas funções, as tem-se maior destaque a incorporação de um átomo de oxigênio no substrato orgânico, sete das 57 isoformas são responsáveis pelo metabolismo de mais de 90% dos fármacos em uso clínico. Sendo elas: CYP1A2, CYP2C9, CYP2C18, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1 E CYP3A4. Destas, as três principais, CYP3A4, CYP2D6 E CYP2C9 são responsáveis por 70% dos fármacos, sendo a CYP3A4, a forma mais abundante no fígado representando 50% (Stoll et al, 2011). Como demonstra os resultados, houve uma considerável diferença entre protótipo e análogos, em que a hidroxicloroquina apresentou não inibição nas isoformas CYP2C19, CYP2C9 e CYP3A4, porém inibiu a CYP2D6, sendo substrato para CYP2D6 e CYP3A4. O análogo JW01, apresentou não inibição nas subfamílias CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6 e CYP3A4, se ligando como substrato apenas na CYP2D6. O análogo JW02, demonstrou não inibição das isoformas CYP2C19, CYP2C9 e CYP3A4, e inibiu CYP2D6, sendo substrato da CYP2D6 e CYP3A4. Com base no exposto é possível observar uma melhora da molécula JW 01 em relação a hidroxicloroquina na questão da inibição de enzimas pois como foi mostrado não houve inibição de nenhuma isoforma, o que diminui riscos de interações medicamentosas e já a molécula JW 02, apresentou perfil igual ao protótipo.

Para identificar possíveis candidatos a medicamentos é importante avaliar o indicador de absorção intestinal, nomeado de HIA (na sigla em inglês para human intestinal absorption). Os dados de absorção intestinal humana são a soma da biodisponibilidade e absorção

avaliadas a partir da razão de excreção ou excreção cumulativa na urina, bile e fezes. Considerada a primeira barreira a ser ultrapassada por um fármaco que por sua vez, se tiver boa lipofilicidade terá uma passagem facilitada através da bicamada lipídica, acessando seu respectivo sítios e ligação. A avaliação de HIA é considerada seguindo os seguintes valores de absorção: 0 a 20% baixa absorção, 20 a 70% absorção moderada e 70 a 100% alta absorção (Yakaiah et al., 2015). Com os resultados obtidos foi possível verificar que todas as moléculas possuem alta absorção, com um aumento nos valores do HIA dos análogos, sendo a JW 02 a que teve uma maior absorção intestinal em relação as demais.

Além dos parâmetros já relatados, convém destacar também o valor de PPB (Plasma Protein Binding que em tradução significa ligação às proteínas plasmáticas). Apenas o medicamento não ligado está disponível para interação com um alvo farmacológico. Dessa forma, um grau de ligação às proteínas plasmáticas de um medicamento influencia sua ação disposição e eficácia (Kang, 2015)

A avaliação da ligação dos fármacos a proteína é mediada através de porcentagem, em que produtos químicos fortemente ligados possuem ligação maior que 90% e produtos químicos fracamente ligados, menor que 90%. Baseando-se na porcentagem de força de ligação, os valores obtidos demonstram que apenas a hidroxicloroquina foi considerada fortemente ligada e os dois análogos considerados fracamente ligados, portanto, ocorre um aumento na intensidade de ação do fármaco o que pode aumentar sua eficácia como também possível aumento de toxicidade, devido a uma fração de fármaco livre maior.

Após a análise farmacocinética, foi avaliado o potencial de toxicidade da hidroxicloroquina e dos seus análogos verificando os parâmetros obtidos por meio da aplicação ADME/Tox (carcinogenicidade, mutagenicidade, inibição do gene HERG e toxicidade aguda em espécies marinhas) visando comparar os parâmetros entre o fármaco protótipo e seus análogos (Quadro 2).

Quadro 2. Parâmetros toxicológicos da hidroxicloroquina e seus análogos.

Parâmetro	Hidroxicloroquina	JW 01	JW 02
TA100 (+S9)	Negativo	Negativo	Negativo
TA100 (-S9)	Negativo	Negativo	Negativo
TA1535 (+S9)	Negativo	Negativo	Negativo
TA1535 (-S9)	Negativo	Negativo	Negativo
Carcinogenicidade – Rato	Negativo	Negativo	Negativo
Carcinogenicidade – Camundongo	Negativo	Negativo	Negativo
Inibição hERG	Médio risco	Médio risco	Médio risco
algae_at	0.0108916	0.0108553	0.0288494
daphnia_at	0.0554527	0.028805	0.088005
medaka_at	0.00582202	0.00208224	0.0184021
minnow_at	0.00995439	0.00290727	0.0315187

Fonte: PREADMET (2020).

Interpretando os parâmetros apresentados no Quadro 2 no que diz respeito a mutagenicidade que é definida a partir do teste de Ames que é um método simples. Ele usa várias cepas da bactéria *Salmonella typhimurium* que carregam mutações nos genes envolvidos na síntese da histidina, de modo que elas requerem histidina para o crescimento. A variável que está sendo testada é a capacidade do mutagênico de causar uma reversão do crescimento em um meio isento de histidina. No teste de Ames é recomendado usar cinco tipos de cepas (TA1535, TA1537 (ou TA 97, ou TA 97a), TA 98, TA 100 e TA 102) mas no PreADMET só é possível prever a toxicidade para TA100 e TA1535 com e sem a fração S9 que avaliam mutagenicidade por substituição de pares de bases (Alliance et. al., 2017).

A fração citada testa a metabolização da substância, sendo composta por frações hepáticas microsossomais e citosólicas, simulando as características dos metabólitos produzidos pelas substâncias em questão (Claxton et al., 2010). Conforme apresentado no Quadro 2 todas as moléculas e seus metabólitos se apresentaram não mutagênicos com base no teste de Ames, o que representa a manutenção dessa característica.

No que se refere a predição de carcinogenicidade em roedores vimos que com base nos dados apresentados no Quadro 2 nenhuma das moléculas apresenta esse potencial. Sabemos que os teste in vivo de carcinogenicidade requer períodos longos em torno de 2 anos, pois nesses testes são avaliadas as possíveis mudanças causadas no DNA após uso da substância, a predição realizada pelo servidor PreADMET prevê o resultado de seu modelo, construído a partir dos dados do NTP (National Toxicology Program) e do US FDA

viabilizando com mais rapidez e baixo custo os resultados (Arwa e Vladimir, 2016).

À análise toxicológica ainda se inclui a possível capacidade de inibição do gene hERG que está intimamente ligado com a função cardíaca. O gene hERG codifica a subunidade α de um canal de potássio que é conhecido por contribuir na atividade elétrica do coração relacionado com a repolarização. Ao ser inibido pode causar um prolongamento do intervalo QT e conseqüentemente um prolongamento do potencial de ação causando principalmente arritmias fatais (Bjerregaard, 2018). Com os dados apresentados pode se notar que assim como a hidroxicloroquina, os dois análogos apresentam um médio risco de inibição do gene hERG, concluindo então que todas tem o mesmo potencial de causar arritmias.

Quanto ao ensaio para avaliar a toxicidade em organismos marinhos, os órgãos fiscalizadores sugerem que sejam utilizadas mais de uma espécie e que pertençam a diferentes níveis tróficos. Portanto são geralmente utilizadas algas (base da cadeia alimentar), crustáceos do gênero *Daphnia* que são consumidores primários das algas, e os peixes medaka e minnow que são consumidores secundários. Preconiza-se que quanto menor é valor nesses testes mais tóxica é a substância já que é considerada a menor dose que pode causar toxicidade (Dolabela et. al., 2018). O análogo JW 02 foi o que apresentou aumento nos valores dos parâmetros e conseqüente uma diminuição da toxicidade nesses organismos em relação as demais moléculas apresentadas.

3.3 Análise farmacodinâmica

Após a busca feita por meio do software Swiss TargetPrediction foi selecionado os alvos importantes que as moléculas estudadas apresentaram probabilidade de ligação, eles estão expostos no Quadro 3.

Quadro 3. Alvos, classes dos alvos e probabilidade de ligação da hidroxicloroquina (HCQ) JW01 e JW02.

Alvo	Classe do alvo	Probabilidade de ligação (HCQ)	Probabilidade de ligação (JW01)	Probabilidade de ligação (JW02)
Receptor muscarínico de acetilcolina M2	Receptor acoplado à proteína G	1	0,134939008937	_____
Receptor adrenérgico $\alpha 1$	Receptor acoplado à proteína G	1	0,134939008937	_____
Receptor adrenérgico $\alpha 2$	Receptor acoplado à proteína G	0,101613854776	0,101613854776	_____
Receptor de histamina H3	Receptor acoplado à proteína G	0,159936683278	0,109945769839	_____
HERG	Canal de íons dependentes da voltagem	0,201601848762	0,109945769839	_____
Proteína cinase cinase 1 ativada por mitogênio de dupla especificidade	Quinase	_____	_____	0,113285953487
Antagonista Bcl2 da morte celular (BAD)	Outra proteína citosólica	_____	_____	0,113285953487
Proteína de diferenciação celular de leucemia mielóide induzida Mcl-1	Outra proteína citosólica	_____	_____	0,113285953487
Regulador de apoptose Bcl-2	Outro canal de íons	_____	_____	0,113285953487
Receptor de tirosina-proteína-quinase FLT3	Quinase	_____	_____	0,113285953487
Proteína ribossômica S6 quinase (P70S6K)	Quinase	_____	_____	0,113285953487
Serina / treonina-proteína quinase Chk2	Quinase	_____	_____	0,113285953487

Serina / treonina- proteína quinase Aurora-A	Quinase	_____	_____	0,113285953487
UFO receptor de tirosina-proteína- quinase	Quinase	_____	_____	0,113285953487

Fonte: Swiss TargetPrediction (2020).

Os receptores colinérgicos muscarínicos (RCMs) são amplamente distribuídos por diversos sistemas biológicos, onde participam de várias funções vitais, existem cinco subtipos (M1, M2, M3, M4 e M5) e todos pertencem à superfamília de receptores acoplados à proteína G e estruturalmente são proteínas de membrana contendo sete domínios transmembranares. Ao serem ativados, esses receptores provocam reações no sistema nervoso periférico e central, falando especificamente do M2 que está presente no músculo cardíaco, ao ser ativado ele reduz a força de contração e também a frequência de batimentos cardíacos, o que está associado à inibição de canais de Ca²⁺ voltagem dependente e à ativação de canais retificadores de K⁺ através da estimulação da Gi (Ventura et al., 2010). Com base no exposto no Quadro 3, a hidroxicloroquina e o análogo JW 01 se ligam ao receptor muscarínico M2, a hidroxicloroquina com a probabilidade de ligação é maior.

Os receptores adrenérgicos também pertencem à família de receptores de membrana, acoplados a proteína G, eles respondem às catecolaminas, sejam naturais como adrenalina e noradrenalina e a diversos fármacos sintéticos. São classificados em receptores α e β que se subdividem em α_1 , α_2 e β_1 , β_2 , β_3 . Os receptores α_1 estão acoplados à fosfolipase C, gerando assim segundos mensageiros que vão ter seus efeitos mediados principalmente pela liberação de Ca²⁺ intracelular, já os receptores α_2 estão localizados principalmente na membrana pré-sináptica e negativamente acoplados à adenilato ciclase, promovendo sua inibição, com isso reduz a formação de adenosina monofosfato cíclico (cAMP) e inibindo canais de cálcio (Akinaga et al., 2013). Com os dados apresentados constatou-se que a hidroxicloroquina e a molécula JW 01 se ligou mais intensamente ao receptor α_1 , em relação ao α_2 a probabilidade de ligação das duas moléculas são iguais.

A histamina é um importante mediador de vários processos do organismo humano, ela está envolvida em processos bioquímicos de respostas imunológicas, exercendo função a nível do sistema gastrointestinal e atuando como neurotransmissor. São quatro os receptores de histamina conhecidos (H1, H2, H3 e H4), sendo H1 e H3 presente mais no sistema nervoso central e H2 nas células do sistema digestório, descobertos em 1983 por Schwartz e cols., os receptores H3 funcionam como um auto-receptor pré-sináptico, que medeia a síntese de

histamina e inibe a sua libertação a partir de neurónios histaminérgicos do córtex cerebral (Brioni et al., 2011, Criado et al., 2010). De acordo com os dados apresentados a hidroxicloroquina apresentou uma maior probabilidade de se ligar ao receptor H3 se comparada com o análogo JW 01.

A síndrome do QT longo (SQTL) é uma desordem da condução elétrica do miocárdio que altera a repolarização ventricular e, conseqüentemente, aumenta a vulnerabilidade para o desenvolvimento de taquiarritmias ventriculares do tipo torsades de pointes (TdP) e morte súbita, sendo que a síndrome pode apresentar origem congênita, quando ocorrem anormalidades nos canais iônicos de sódio e potássio das células miocárdicas, ou adquirida devido ao uso de medicações (Wang & MacKinnon, 2017). As medicações podem inibir um gene importante chamado hERG que contribui na atividade elétrica do coração e ao ser inibido pode provocar o prolongamento do intervalo citado (Maior et al., 2011). Observou-se que os dois fármacos podem inibir esse gene, mas com a hidroxicloroquina esse risco foi maior se comparado a probabilidade de ligação com o análogo JW 01.

4. Considerações Finais

Esse estudo forneceu uma base para observarmos as características farmacológicas da hidroxicloroquina e dos seus análogos desenvolvidos e de acordo com as predições que foram feitas podemos constatar que os dois análogos apresentaram-se um pouco melhores que a hidroxicloroquina, em relação a farmacocinética o análogo JW 01 apresentou uma velocidade de absorção (Caco2) melhor que o protótipo e também a não inibição de isoformas do citocromo P450 o que diminui riscos de interações medicamentosas. Na farmacodinâmica os dois análogos se apresentaram perfil melhor que o protótipo, sendo que JW 01 apresentou probabilidades de ligações menores com alguns receptores e a JW 02 não se ligou a nenhum deles, sendo que podem explicar um possível mecanismo de efeito adversos. E por fim temos a toxicologia em que as moléculas não se apresentaram mutagênicas e carcinogênicas, no risco de inibição do gene hERG apresentaram médio risco, e o análogo JW 02 se apresentou menos tóxico que as demais moléculas nos ensaios com animais marinhos.

Com esse estudo temos uma base de como seria um fármaco sintetizado a partir da hidroxicloroquina, mas que para ser obtido requer muito mais pesquisa e testes para que se saiba os efeitos no organismo já que esse estudo foi realizado apenas no campo computacional.

Referências

Akinaga, J., Lima, V., Kiguti, L. R., Hebler-Barbosa, F., Alcántara-Hernández, R., García-Sáinz, J. A., & Pupo, A. S. (2013). Differential phosphorylation, desensitization, and internalization of α 1A-adrenoceptors activated by norepinephrine and oxymetazoline. *Molecular Pharmacology*, 83(4), 870–881.

Alliance, D., Santos, C. B. R. D., Barbosa, L. M. C., Gomes, J. S., Lobato, C. C., Viana, J. C., & Souto, R. N. P. (2017). Chemical Study, Predictions In Silico and Larvicide Activity of the Essential Oil of Root *Philodendron deflexum* Poepp. *Journal of Computational and Theoretical Nanoscience*, 14(7), 3330-3337

Arwa B. R., & Vladimir, B. B. (2016). In silico toxicology: computational methods for the prediction of chemical toxicity. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science*, 7, 147-172

Bjerregaard, P. (2018). The diagnosis and management of short QT syndrome. *Heart Rhythm*. 15(8), 1261–1267.

Brioni, J. D., Esbenshade, T. A., Garrison, T. R., Bitner, S. R., & Cowart, M. D. (2011). Discovery of histamine H3 antagonists for the treatment of cognitive disorders and Alzheimer's disease. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 336(1), 38–46.

Browning, D. J. (2014) *Hydroxychloroquine and Chloroquine Retinopathy*. [e-book]. Charlotte. Charlotte Eye Ear Nose & Throat Associates.

Burgess, A., & Hynynen, K. (2013). Noninvasive and targeted drug delivery to the brain using focused ultrasound. *ACS chemical neuroscience*, 4(4), 519–526.

Céspedes, M. da S., & Souza, J. C. R. P. de. (2020). Coronavirus: a clinical update of Covid-19 *Revista da Associação Médica Brasileira*, 66(2), 116-123.

Clark, M. A., et al. (ED). Pharmacology. (5a ed.) Baltimore: Walters Kluwer, 2012, (Lippincott's illustrated reviews).

Claxton, L. D., Umbuzeiro, G., & DeMarini, D. M. (2010). The Salmonella mutagenicity assay: the stethoscope of genetic toxicology for the 21st century. *Environmental Health Perspectives*, 118(11), 1515–1522.

Criado, P R., Criado, R. F. J., Maruta, C. W., Machado Filho, C. d'A. (2010). Histamina, receptores de histamina e anti-histamínicos: novos conceitos. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 85(2), 195-210.

Colson, P., Rolain, J. M., Lagier, J. C., Brouqui, P., & Raoult, D. (2020). Chloroquine and hydroxychloroquine as available weapons to fight COVID-19. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 55(4), 105932. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.105932>

Danza, A., Graña, D., Goñi, M., Vargas, A., Ruiz-Irastorza, G. (2016). Hidroxicloroquina en el tratamiento de las enfermedades autoinmunes sistémicas. *Revista Médica de Chile*, 144, 232-240.

Devaux, C. A., Rolain, J. M., Colson, P., Raoult, D. (2020). New insights on the antiviral effects of chloroquine against coronavirus: what to expect for COVID-19? *International Journal of Antimicrobial Agents*, 55(5), 1-6.

Dolabela, M. F., Silva, A. R. P. D., Ohashi, L. H., Bastos, M. L. C., Silva, M. C. M. D., & Vale, V. V. (2018). Estudo in silico das atividades de triterpenos e iridoides isolados de *Himatanthus articulatus* (Vahl) Woodson. *Revista Fitos*, 12(3), 227-242.

Fantini, J., Di Scala, C., Chahinian, H., & Yahi, N. (2020). Structural and molecular modelling studies reveal a new mechanism of action of chloroquine and hydroxychloroquine against SARS-CoV-2 infection. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 1-8

Ferrari, F. (2020). COVID-19: Dados Atualizados e sua Relação Com o Sistema Cardiovascular. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. Recuperado de <https://doi.org/10.36660/abc.20200215>

Gameiro Filho, A. R., Souza, R. de M., Santos F. M. dos., Cardoso, R. de C. M., Mello, P. C. de., Alves Junior, A. de A. (2018). Retinal toxicity due to hydroxychloroquine: frequency in an Ophthalmology ambulatory. *Revista Brasileira Oftalmologia*, 77 (5), 261-263.

Halligudi, N., Mullaicharam, A. R., & Al-Bahri, H. (2017). Molecular modification of ibuprofen using in silico modeling system. *International Journal of Nutrition, Pharmacology, Neurological Diseases*, 2(2), 156-162.

Lacava, A. C. (2010). Complicações oculares da terapêutica com a cloroquina e derivados. *Arquivos Brasileiros de Oftalmologia*, 73(4), 384-389.

Maior, A. S., Barbosa, P. R. B., Barbosa Neto, O., Mota, G. R. da., Marocolo Júnior, M. (2011). Canais Iônicos de Potássio Associados à Síndrome do QT Longo Adquirido. *Revista Brasileira de Cardiologia*, 24(1), 42-51.

Martins, L. R., Coelho, F. C., Gomes, M. F. da C., Cruz, O. G., Bastos, L. S., Villela, D. A. M., Codeço, C. T. (2020). Emergência do novo coronavírus (SARS-CoV-2) e o papel de uma vigilância nacional em saúde oportuna e efetiva. *Cadernos de Saúde Pública*, 36(3), 1-5.

Mikovski, D., Basso, J., Silva, P. da., Ribas, J. L. C. (2018). Química Medicinal E A Sua Importância No Desenvolvimento De Novos Fármacos. *Revista Saúde e Desenvolvimento*, 12(13), 30-43.

Pereira, A. S., et al. (2018). *Metodologia da pesquisa científica*. [e-book]. Santa Maria. Ed. UAB/NTE/UFSM.

Santos, C. (2008) Ciclização intramolecular: uma estratégia promissora no desenvolvimento de pró-fármacos. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 44(3), 349-360.

Santos, R. da C. dos., Daniel, I. C., Próspero, D. F. A., Costa, C. L. S. da. (2018). Modificação molecular incremental: análise de parâmetros físico-químicos, farmacocinéticos e toxicológicos in silico de fármacos inibidores seletivos da recaptção de serotonina (ISRSs). *Boletim Informativo Geum*, 9(2), 31-38.

Semeniuk, A., et al. (2008) Molecular geometry of antimalarial amodiaquine in diferente crystalline environments. *Journal of Molecular Structure*, 875(1-3), 32–41.

Stoll, F., Göller, H., & Hillisch, A. (2011) Utility of structures in overcoming ADME- related issues of drug-like compounds. *Drug Discovery Today*, 16(11-12), 530-538.

Ventura, A. L. M., Abreu, P. A., Freitas, R. C. C., Sathler, P. C., Loureiro, N., Castro, H. C. (2010). Sistema colinérgico: revisitando receptores, regulação e a relação com a doença de Alzheimer, esquizofrenia, epilepsia e tabagismo. *Revista de Psiquiatria Clínica*, 37(2), 66-72.

Vieira, G. de. D., & Sousa, C. M. de. (2013) Aspectos celulares e fisiológicos da Barreira Hematoencefálica e a sua relação com as doenças neurodegenerativas. *Journal of Health & Biological Sciences*, 1(4), 166-170.

Wang, W., & MacKinnon, R. (2017). "Cryo-EM Structure of the Open Human Ether-à-go-go-Related K⁺ Channel hERG". *Cell*. 169(3), 422–430.

Yakaiah, C., Sneha, T., Shalini, T., Srinivas, C., Anand, K. D., Niranjana, K. A., Srinivas K. V. N. S., Sarfaraz A., Kotesk K. J., Feroz K., & Ashok T., P. G. (2015). Synthesis, docking and ADMET studies of novel chalcone triazoles for anti-cancer and anti-diabetic activity, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 93, 564-573.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Jeremias Morais Ribeiro – 40%

Wanderson Freitas Costa Sousa – 40%

Joubert Aires de Sousa – 20%