



**Serviço Público Federal
Ministério da Educação**

FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL

Programa de Pós-Graduação em Farmácia



AMARITH RODRIGUES DAS NEVES

**ATIVIDADE ANTILEISHMANIA DE COMPOSTOS ISOXAZÓLICOS DERIVADOS
DAS NEOLIGNANAS VERAGUENSINA, GRANDISINA E MACHILINA G**

CAMPO GRANDE

2018



Serviço Público Federal
Ministério da Educação

FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL

Programa de Pós-Graduação em Farmácia



AMARITH RODRIGUES DAS NEVES

**ATIVIDADE ANTILEISHMANIA DE COMPOSTOS ISOXAZÓLICOS DERIVADOS
DAS NEOLIGNANAS VERAGUENSINA, GRANDISINA E MACHILINA G**

Dissertação de Mestrado apresentada como requisito pelo Programa de Pós-Graduação em Farmácia, da Faculdade de Farmácia e Nutrição da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Adriano Cesar de Moraes Baroni

Co-orientadora: da Profa. Dra. Carla Cardozo Pinto de Arruda.

CAMPO GRANDE

2018

*Dedico este trabalho as mulheres da minha vida,
minha mãe Nilda, minha avó Anadyr e a minha
companheira Denise.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por guiar o meu caminho e fortalecer a minha fé a cada dia.

Agradeço a minha maravilhosa mãe Nilda, que faz tudo para que eu alcance os meus sonhos, apoiando todas as minhas decisões com seu amor incondicional. Conquistamos mais esta etapa juntas!

À minha avó Anadyr que sempre acreditou em meu potencial e ensinou entre muitas coisas, que o conhecimento é o maior bem que podemos adquirir e através dele podemos nos transformar diariamente.

À minha companheira Denise, que está ao meu lado em todos os momentos, dedicando seu amor, apoio, carinho e confiança.

Ao meu querido padraсто Steven, por seu cuidado e atenção.

Ao meu orientador Adriano, pela oportunidade de ser sua aluna de mestrado, todos os momentos ao seu lado são de aprendizado, desde os momentos sérios aos de descontração. O educador se eterniza em cada um que ele educa, obrigada por me inspirar diariamente.

À minha amiga e parceira Natália, que esteve comigo no mestrado, sorrimos e choramos juntas, conduzimos as situações adversas com bom humor e mais ainda aprendemos que o companheirismo e amizade é a melhor maneira de enfrentar qualquer coisa na vida.

À minha amiga Stefany, por sua amizade maravilhosa, que dedicou seu tempo a nos ajudar nos experimentos, tornando os dias e noites mais divertidas no laboratório.

Ao meu amigo Antônio, que conhecemos no laboratório de Parasitologia, obrigada por nos ensinar com paciência, aprendemos muitas coisas juntos e nos divertimos mais ainda.

Ao pessoal do Laboratório de Química Farmacêutica, especialmente a Camila que nos ajudou e ensinou muito, a Maria Leticia pelo apoio nos momentos difíceis e ao Diego pela dedicação, compromisso e parceria para conclusão deste trabalho.

À professora Carla, por nos receber no Laboratório de Parasitologia, sua orientação para a realização dos experimentos e correção dos trabalhos de forma atenciosa.

Ao pessoal do Laboratório de Parasitologia por nos acolher, em especial Elisa, Aline e Ju pelo apoio logístico e ajuda sempre que precisávamos.

À colega de mestrado Lanna do laboratório de cultura de células, que gentilmente realizou leituras dos nossos experimentos.

À professora Monica Kadri e a Iluska do laboratório de Biofisiologia pela realização dos experimentos de dosagem de óxido nítrico.

Aos professores membros da banca examinadora pela disponibilidade em contribuir para o enriquecimento do trabalho.

Ao Luís, secretário do Programa de Pós-Graduação por toda ajuda durante o mestrado.

Ao Programa de Pós-graduação em Farmácia e aos professores que contribuíram para a conclusão desta etapa em minha vida profissional.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES) pelo apoio financeiro.

Enfim, agradeço a todos que contribuíram e fizeram parte desta etapa tão importante em minha vida.

“A procura é o encontro e o encontro é a procura, sempre teremos algo a aprender “

Monja Coen

RESUMO

As doenças negligenciadas acometem principalmente países em constante situação de desigualdade, pobreza e difícil acesso à informação. Os fármacos utilizados para estas doenças são restritos e infelizmente não são a prioridade das indústrias farmacêuticas devido ao baixo retorno financeiro relacionado. Entre as doenças negligenciadas as leishmanioses são prevalentes no Brasil e consideradas um sério problema de saúde pública. Desta forma é ressaltada a importância de estudos para o desenvolvimento de novos candidatos a fármacos com esta finalidade. Neste trabalho, 16 análogos isoxazólicos sintetizados anteriormente através do bioisosterismo, com padrões de substituição presentes nas neolignanas veraguensina, grandisina e machilina G foram avaliados em relação a atividade antileishmania em formas promastigotas e amastigotas de *L. amazonensis*. O ensaio de citotoxicidade também foi realizado possibilitando obter o índice de seletividade dos compostos. Os análogos isoxazólicos com maior atividade biológica *in vitro* poderão ser considerados candidatos aos ensaios *in vivo* e estudos para elucidação de possíveis mecanismos de ação.

Palavras-chave: *doenças negligenciadas, leishmanioses, análogos isoxazólicos, bioisosterismo, neolignanas.*

ABSTRACT

The neglected tropical diseases affect over one billion people worldwide, prevailing in populations living in poverty and without suitable sanitary conditions. Social and economic inequalities, difficult access to information and health systems are also a concern. The treatments are restricted and unfortunately are not the priority to pharmaceutical industries due to the minor financial return. Among neglected diseases, leishmaniasis is prevalent in Brazil and is considered a cause of alarm to public health system. Therefore, it is emphasized the need of new drug candidates for this purpose. In this work, we evaluate the antileishmanial activity of sixteen isoxazole analogues previously synthesized, with substitution patterns present in the tetrahydrofuran neolignans veraguensin, grandisin and machilin G, on promastigotes and intracellular amastigotes of *L. amazonensis*. The cytotoxicity assay was also performed in order to obtain the selectivity index of the compounds. Isoxazole analogues with the highest biological activity *in vitro* may be considered candidates for *in vivo* assays and studies to elicit possible mechanisms of action.

Keywords: *neglected diseases; leishmaniasis; isoxazole analogues; bioisosterism, neolignans.*

LISTA DE ABRIATURAS E SIGLAS

FDA – Food and Drug Administration

HTS – High Throughput Screening

LC – Leishmaniose Cutânea

OMS – Organização Mundial da Saúde

SINAN – Sistema de Informação de Agravos de Notificação

TR – Tripanotiona redutase

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribuição geográfica dos casos de leishmaniose cutânea, segundo WHO, 2017. América do Sul: Brasil (rosa), Bolívia, Peru, Equador, Colômbia e Venezuela (roxo); África: Marrocos, Argélia e Tunísia (amarelo) e Oriente Médio: Síria, Irã, Iraque e Afeganistão (laranja).....	2
Figura 2 . Inseto vetor, formas promastigotas e amastigotas de protozoários do gênero <i>Leishmania</i>	3
Figura 3. Casos de leishmaniose cutânea.	4
Figura 4. Lesões características de Leishmaniose cutânea.....	5
Figura 5. Fármacos utilizados no tratamento das leishmanioses.....	5
Figura 6. Anel isoxazol e triazol.....	12
Figura 7. Análogos isoxazólicos com padrões de substituição presentes nas neolignanas tetrahydrofurânicas.	14

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Propriedades de <i>druglike</i> , Regra dos Cinco de Lipinski.....	10
---	----

SUMÁRIO

1. REVISÃO DE LITERATURA	1
1.1 Introdução	1
1.2 Epidemiologia das leishmanioses	1
1.3 Agente etiológico	2
1.4 Leishmaniose Tegumentar ou Cutânea	4
1.5 Tratamento	5
1.5.1 Antimoniais Pentavalentes	6
1.5.2 Anfotericina B	6
1.5.3 Pentamidina	7
1.5.4 Miltefosina	7
1.5.5 Paromomicina	8
2. Protótipos de origem natural	8
2.1 Estratégias de modificação molecular no planejamento de novos fármacos	10
2.2 Anéis heterocíclicos	11
2.3 Do planejamento estrutural à atividade biológica	12
3. OBJETIVOS	14
3.1 OBJETIVO GERAL	14
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
REFERÊNCIAS	15
ARTIGOS	
ANEXO A-APROVAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS	

1. REVISÃO DE LITERATURA

1.1 INTRODUÇÃO

As doenças negligenciadas são assim denominadas por acometerem principalmente populações vivendo em situação de pobreza, em precárias condições sanitárias, expostas ao contato com os vetores e falta de acesso aos sistemas de saúde. Estas doenças representam um obstáculo ao desenvolvimento social e econômico de países localizados em áreas endêmicas, destacando a falta de investimentos na prevenção e tratamento como fatores agravantes (MACKEY et al., 2014; WHO, 2017).

Apesar da relevância destes dados epidemiológicos, ainda existem muitos desafios relacionados ao tratamento das doenças negligenciadas. Existem alguns projetos em andamento com parcerias entre universidades e indústrias farmacêuticas visando ao desenvolvimento de fármacos eficazes e acessíveis às populações acometidas. No entanto, as indústrias farmacêuticas não demonstram muito interesse em investir neste tipo de pesquisa, devido ao restrito desenvolvimento econômico e político das regiões endêmicas e consequentemente o diminuto retorno financeiro relacionado (MACKEY et al., 2014; KLUG; GELB; POLLASTRI, 2016).

As leishmanioses são consideradas doenças negligenciadas, com prevalência em países tropicais e subtropicais. Constituem um grave problema de saúde pública, pois mais de um bilhão de pessoas vivem em áreas endêmicas, sujeitas à exposição ao parasito e possibilitando o desenvolvimento da doença (WHO, 2016; WHO, 2017).

A incidência das leishmanioses é uma questão multifatorial e a mortalidade associada relaciona-se com o constante aumento de resistência dos parasitos aos fármacos disponíveis e a falta de acesso aos mesmos (LAMOTTE et al., 2017).

1.2 EPIDEMIOLOGIA DAS LEISHMANIOSES

A leishmaniose apresenta-se nas formas tegumentar (cutânea, mucosa e difusa) e visceral. A forma clínica visceral caracteriza-se por febre, aumento do baço e fígado, perda de peso, entre outros sintomas. Já a forma tegumentar caracteriza-se principalmente pela presença de ulcerações na pele (HANDLER et al., 2015).

Anualmente, são registrados entre 200.000 e 500.000 mil novos casos de leishmaniose visceral e aproximadamente 1,5 milhão de novos casos de leishmaniose cutânea (LC), sendo somente entre 19% e 37% deles notificados às autoridades de saúde (WHO, 2014; WHO, 2016). Dentre os casos de leishmaniose cutânea, 90% estão distribuídos principalmente em três regiões do mundo, África, Oriente Médio e América do Sul (Figura 1) (ALVAR et al., 2012; WHO, 2017).

No Brasil, os casos de leishmaniose cutânea apresentam alta incidência e ampla distribuição geográfica, sendo as principais áreas endêmicas as regiões Norte, Centro-Oeste e Nordeste (BRASIL, 2015). Dados do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), do Ministério da Saúde, indicam que no ano de 2016 foram confirmados 12.690 casos de leishmaniose cutânea no país, sendo que 85 casos foram notificados no Estado de Mato Grosso do Sul (BRASIL, 2017a; BRASIL, 2017b).

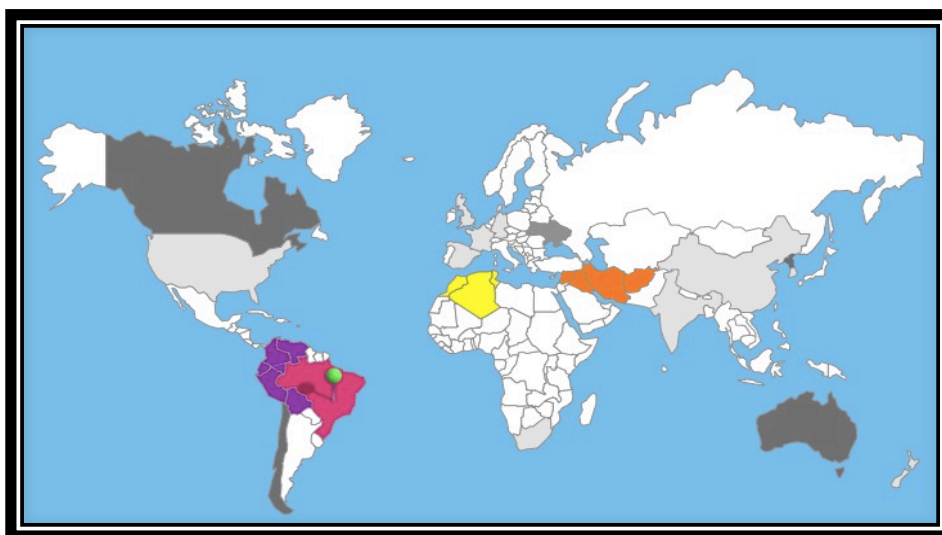


Figura 1. Distribuição geográfica dos casos de leishmaniose cutânea, segundo WHO, 2017. América do Sul: Brasil (rosa), Bolívia, Peru, Equador, Colômbia e Venezuela (roxo); África: Marrocos, Argélia e Tunísia (amarelo) e Oriente Médio: Síria, Irã, Iraque e Afeganistão (laranja).

1.3 AGENTE ETIOLÓGICO

As leishmanioses são causadas por protozoários parasitos da Ordem Kinetoplastida, Família Trypanosomatidae, gênero *Leishmania*. Entre uma variedade de espécies de *Leishmania*, vinte delas são responsáveis por provocar a doença em humanos (WHO, 2016). Os parasitos são transmitidos por insetos vetores pertencentes à Ordem Diptera, Família Psychodidae, subfamília Phlebotominae, constituída de dois gêneros dependendo da região

em que são encontrados: *Phlebotomus* (Europa, África, Oriente Médio, Ásia Central e Subcontinente indiano) ou *Lutzomyia* (América do Sul e América Central) (AKHOUNDI et al., 2016).

O protozoário é encontrado nas formas morfológicas promastigota (flagelada, extracelular, encontrada no inseto vetor) e amastigota (arredondada, intracelular, no interior dos macrófagos, que são células do sistema fagocítico mononuclear) (KIMA, 2007; CDC, 2013).

O complexo ciclo de vida dos protozoários do gênero *Leishmania* inicia-se quando um inseto flebotomíneo fêmea adquire os parasitos na forma amastigota, durante o repasto sanguíneo de um hospedeiro vertebrado. As formas amastigotas transformam-se em promastigotas e estas multiplicam-se por divisão binária no intestino do inseto vetor e posteriormente, migram para o esôfago e faringe do mesmo. Através da metaciclogênese, as formas promastigotas transformam-se em promastigotas metacíclicas, formas infectantes do parasito, que são inoculadas em novo hospedeiro vertebrado através do repasto sanguíneo. A *Leishmania* e a saliva do inseto vetor estão relacionadas à supressão da resposta imune inflamatória inicial no hospedeiro. As formas promastigotas metacíclicas são fagocitadas por macrófagos, onde diferenciam-se em amastigotas. No interior dos macrófagos ocorre a multiplicação das formas amastigotas até o rompimento das células hospedeiras, ocorrendo a disseminação da infecção (Figura 2) (HANDLER et al., 2015; BORGHI et al., 2016; MENEZES; SARAIVA; ROCHA-AZEVEDO, 2016).

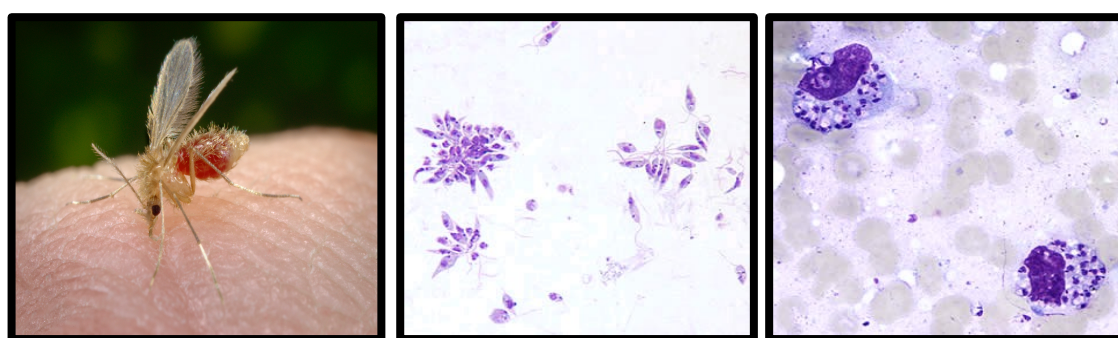


Figura 2. Inseto vetor, formas promastigotas e amastigotas de protozoários do gênero *Leishmania*.

Fonte: CDC, <https://www.cdc.gov/dpdx/leishmaniasis/index.html>

1.4 LEISHMANIOSE TEGUMENTAR OU CUTÂNEA

Nas Américas, são reconhecidas 11 espécies de *Leishmania* causadoras da leishmaniose cutânea em humanos e oito espécies descritas somente em animais. As principais espécies no Brasil são *Leishmania (Viannia) braziliensis*, *Leishmania (Viannia) guyanensis* e *Leishmania (Leishmania) amazonensis* (REITHINGER et al., 2007; BRASIL, 2010). *Leishmania (L.) amazonensis* é uma das espécies do complexo *Leishmania mexicana*, causadora da leishmaniose cutânea no Brasil, sendo de grande importância pois sua frequente adaptação aos mecanismos intracelulares do sistema imunológico do hospedeiro acrescenta um desafio a mais no tratamento (KIMA, 2007; COELHO et al., 2011; BORGHI et al., 2016).

A leishmaniose tegumentar ou cutânea apresenta manifestações clínicas que variam de lesões cutâneas (únicas, múltiplas ou difusas) a formas mucosas (Figura 3) (BRASIL, 2010). É observado polimorfismo lesional, sendo a úlcera na pele a lesão mais frequente (85% dos casos) (COELHO-NETO et al., 2012).



Figura 3. Casos de leishmaniose cutânea.

Fonte: BENTES, A. A.; RODRIGUES, D. E.; CARVALHO, E.; CARVALHO, A. L., CAMPOS, F. A.; ROMANELLI, R. M. D. C. Leishmaniose tegumentar americana: um desafio diagnóstico na prática pediátrica, (2015).

A forma cutânea localizada é caracterizada por lesão única no local da picada do inseto vetor, apresentando forma arredondada, ulcerada, com bordas elevadas e fundo granuloso (Figura 4) (HANDLER et al., 2015). A forma cutânea difusa apresenta múltiplos nódulos ausentes de úlceras. A forma mucosa pode ser considerada secundária e está relacionada principalmente às vias aéreas superiores, sendo identificada posteriormente, mesmo após a resolução das lesões cutâneas. A leishmaniose mucosa apresenta difícil tratamento pois pode evoluir para a destruição dos tecidos nas mucosas e ainda estar associada a infecções bacterianas (Figura 4) (REITHINGER et al., 2007; COELHO-NETO et al., 2012).

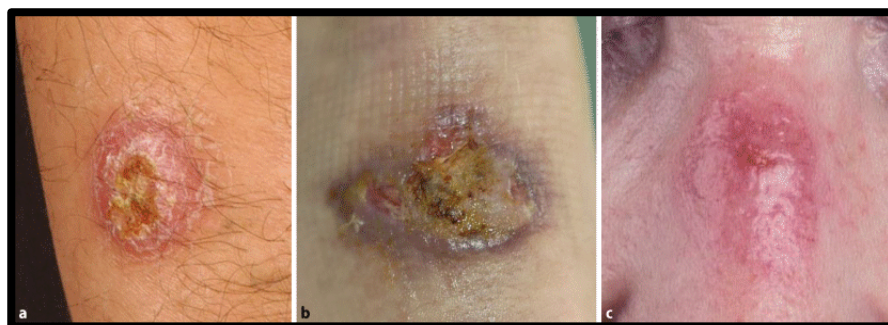


Figura 4. Lesões características de Leishmaniose cutânea.

Fonte: VON STEBUT, E. Leishmaniasis. **Der Hautarzt**, [s.l.], v. 1, n. 1, p.1-5, 8 jun. 2017. Springer Nature.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00105-017-4001-9>

1.5 TRATAMENTO

O tratamento recomendado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) para os casos de leishmaniose cutânea, tem como base a utilização de antimoniais pentavalentes como fármacos de primeira escolha (WHO, 2017). No Brasil, o principal fármaco é o antimoniato de *N*-metilglucamina (Glucantime®). Como opções terapêuticas são utilizados outros medicamentos como a pentamidina, a anfotericina B, a paromomicina e a miltefosina (Figura 5) (SINGH; KUMAR; SINGH, 2012; MACHADO-SILVA et al., 2014).

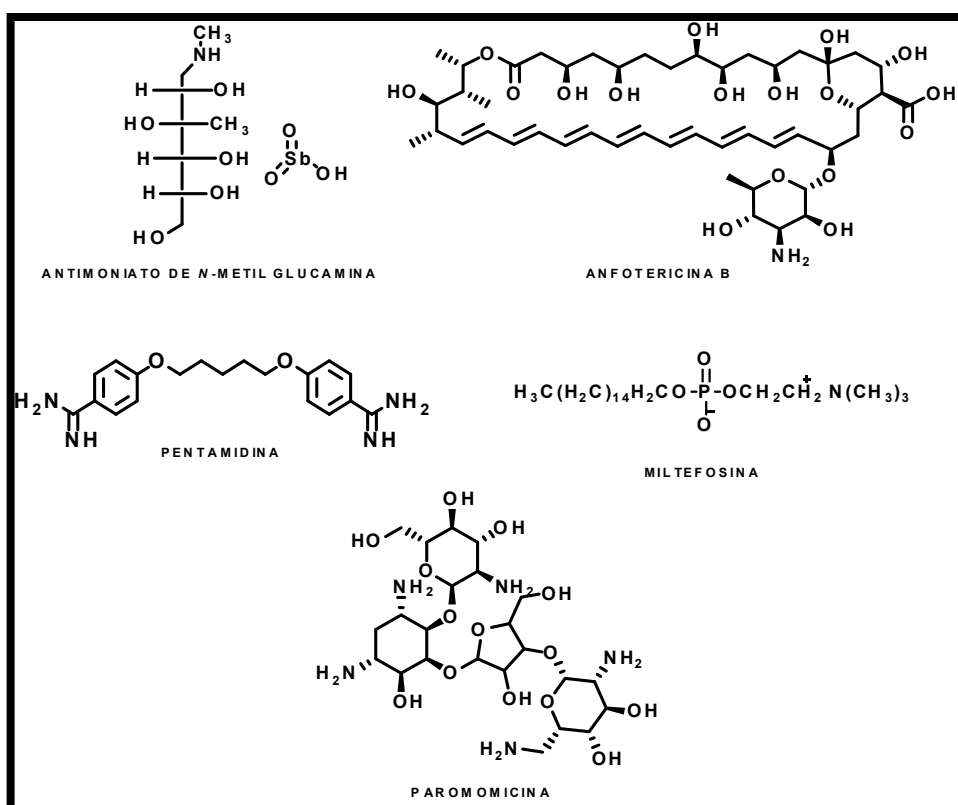


Figura 5. Fármacos utilizados no tratamento das leishmanioses.

De forma geral, os fármacos utilizados no tratamento das leishmanioses apresentam sérios efeitos adversos, além da possibilidade de resistência pelo parasito. O desenvolvimento de fármacos mais eficazes é fundamental, possibilitando menores ciclos de administração e menor toxicidade aos pacientes ou animais (OLIVEIRA, 2011).

É fundamental compreender que a resposta ao tratamento também está relacionada a espécie de *Leishmania* e a sua localização geográfica, resultando em variações na eficácia do processo terapêutico (HANDLER et al., 2015).

1.5.1 Antimoniais Pentavalentes

Os fármacos de primeira linha utilizados no tratamento da leishmaniose cutânea são os antimoniais pentavalentes (Sb^{+v}), que incluem o antimoniato *N*-metilglucamina, de nome comercial Glucantime® (Sanofi-Aventis), e o estibogluconato de sódio, Pentostam® (GlaxoSmithKleine), não disponível no Brasil, embora preconizado pela OMS (BRASIL, 2010). O antimoniato pentavalente (Sb^{+v}) é considerado um pró-fármaco, sendo convertido no organismo em sua forma ativa, o antimoniato trivalente (Sb^{+III}) (SINGH; KUMAR; SINGH, 2012).

Administrados por via parenteral, estes fármacos apresentam efeitos adversos indesejáveis como mialgia, anorexia, febre, toxicidade ao fígado, coração, rins e baço, limitando sua utilização. Falhas na terapia e aumento das formas resistentes do parasito foram identificadas devido principalmente à administração de doses baixas e também tratamentos descontínuos (OLIVEIRA et al., 2011).

O mecanismo de ação do antimoniato de *N*-metilglucamina ainda não foi completamente elucidado, porém são descritas na literatura algumas hipóteses, como: mecanismo de oxidorredução do antimônio na célula e inibição da enzima tripanotona redutase (TR); indução de espécies reativas de oxigênio ou nitrogênio, promovendo estresse oxidativo; formação de complexos com nucleotídeos; formação de complexos glicoconjugados e ainda a ativação do sistema imunológico do hospedeiro (WILLIE; CUNNINGHAM; FAIRLAMB, 2004; BASTOS et al., 2016).

1.5.2 Anfotericina B

A anfotericina B, desoxicolato de anfotericina, originalmente isolada da bactéria *Streptomyces nodosus*, é um dos medicamentos de segunda escolha amplamente utilizado no tratamento das leishmanioses (SEIFERT, 2011). A atividade antileishmania deste fármaco

está relacionada à seletividade ao ergosterol presente na membrana celular da *Leishmania*. Através do aumento da permeabilidade da membrana celular ocorre o influxo de íons no parasito promovendo a morte tanto em formas promastigotas como amastigotas (GOTO; LINDOSO, 2010).

Apesar de sua utilização, infelizmente o fármaco apresenta sérios efeitos colaterais como náusea, febre, tremores, hemólise, toxicidade cardíaca, renal e hepática, entre outros (MACHADO-SILVA et al., 2014).

Como alternativa para minimizar a toxicidade renal, a anfotericina B é incorporada em lipossomas carreadores. Esta formulação demonstra eficácia tanto no tratamento da leishmaniose cutânea como mucocutânea, principalmente nos casos em que existe falha com a terapia de antimoniais (SINGH; KUMAR; SINGH, 2012). A anfotericina B lipossomal (AmBisome®) é indicada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como alternativa ao tratamento, principalmente da leishmaniose visceral, devido à sua maior eficácia e segurança, porém o alto custo da formulação ainda é um fator limitante do seu uso (WHO, 2017b).

1.5.3 Pentamidina

A pentamidina apresenta estrutura química simétrica com diaminas aromáticas, sendo o *linker*, uma cadeia de cinco átomos de carbono. É outro fármaco de segunda escolha para o tratamento das leishmanioses, sendo utilizada com êxito em casos de leishmaniose cutânea, nos casos em que não há resposta ao tratamento com antimoniais pentavalentes ou em pacientes com sensibilidade ao mesmo (GOTO; LINDOSO, 2010; NO, 2016).

A administração é endovenosa, ocorrendo dor no local da injeção e também outros efeitos adversos como náusea, dor de cabeça, hipertensão, erupções na pele, disfunção renal e hepatotoxicidade (OLIVEIRA et al., 2011).

O mecanismo de ação inicial da pentamidina em *Leishmania* ainda não foi completamente elucidado, porém acredita-se que a ação esteja relacionada à inibição do transporte de membrana (inibindo a recaptação de poliaminas) e ação nas mitocôndrias (interferindo na síntese do DNA), ocasionando a morte dos protozoários (GOTO; LINDOSO, 2010; NO, 2016).

1.5.4 Miltefosina

A miltefosina é um análogo alquilfosfocolina (com ésteres de fosfocolina de uma longa cadeia de álcoois), com aplicação inicial em alguns tratamentos de câncer de mama, depois em casos de leishmaniose visceral (GOTO; LINDOSO, 2010; DORLO et al., 2012;

NO, 2016). Os efeitos adversos da miltefosina são toxicidade gastrointestinal, hepática e renal, além de ser considerado teratogênico. As recidivas são frequentes devido ao longo tratamento com o fármaco (OLIVEIRA et al., 2011; SUNDAR et al. 2012).

É um fármaco que apresenta biodisponibilidade oral e seu mecanismo de ação no parasito está relacionado à modulação de receptores lipídio dependentes e apoptose (DORLO et al., 2012; NO, 2016).

1.5.5 Paromomicina

A paromomicina ou sulfato de aminosidina, é um antibiótico aminoglicosídico que apresenta atividade antileishmania. Pode ser utilizado em associação com outros fármacos como antimoniais e anfotericina B. A administração pode ser tópica ou intramuscular, dependendo da formulação. Apresenta efeitos adversos como ototoxicidade, nefrotoxicidade e dor no local da administração parenteral (LINDOSO et al., 2012; NO, 2016).

O mecanismo de ação ainda não foi precisamente elucidado, podendo estar relacionado com a inibição da síntese proteica, promovendo alterações na fluidez ou permeabilidade da membrana do parasito, afetando as mitocôndrias (HALDAR; SEN; ROY, 2011; NO, 2016).

2. PROTÓTIPOS DE ORIGEM NATURAL

Os produtos naturais são aplicados como agentes terapêuticos desde os momentos iniciais da medicina e ainda continuam inspirando o desenvolvimento de novos derivados, com capacidade de tornarem-se fármacos, devido à presença de metabólitos secundários com diversas propriedades farmacológicas interessantes (LI; VEDERAS, 2009; NEWMAN; CRAGG, 2016; MATHUR; HOSKINS, 2017).

Entre os metabólitos secundários, destaca-se a classe das neolignananas, que são compostos dímeros oxidativos de alilfenóis e/ou propenilfenóis (EVANS, 2009) com atividades farmacológicas antitumoral, antiPAF, inseticida, antibacteriana, anti-inflamatória, analgésica, antichagásica e antileishmania (SILVA FILHO et al., 2008; SINGH et al., 2014). Estudos na área de descoberta de novos fármacos com ação antileishmania descreveram a utilização de metabólitos secundários isolados como alternativa mais específica em relação a utilização do extrato bruto da planta (RIBEIRO et al., 2012; DAGNINO, 2015).

Os produtos de origem natural apresentam diversidade química, porém podem apresentar propriedades indesejadas que dificultam a realização de ensaios biológicos, como a

baixa solubilidade e elevada toxicidade. Nestes casos a síntese química é observada como uma opção vantajosa utilizando os produtos de origem natural como protótipos na obtenção de novos candidatos a fármacos, possibilitando aprimorar a estrutura química inicial em relação as propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas (BARREIRO; FRAGA, 2015; CHEUKA, et al., 2017; PYE, et al., 2017).

Neste contexto, os conceitos de química medicinal mostram-se eficazes, possibilitando a obtenção de compostos otimizados através de técnicas de modificações moleculares, partindo de *scaffolds* de compostos de origem natural com propriedades únicas (WERMUTH, 2008; HARVEY; EDRADA-EBEL; QUINN, 2015; CHEUKA et al., 2017).

Newman e Cragg (2016), descreveram a relevância dos produtos naturais como agentes clínicos através de um levantamento de dados sobre os fármacos aprovados pelo *Food and Drug Administration* (FDA) entre 1981 e 2014, sendo observado que 4% eram produtos naturais inalterados e entre 50-70% apresentaram alguma característica química derivada ou inspirada em produto de fonte natural.

A expansão da síntese química pode estar relacionada à diminuição no número de fármacos completamente de origem natural, devido a dificuldade de isolamento dos compostos e também pelo extensivo uso de técnicas de *high throughput screening* (HTS) em bibliotecas de compostos sintéticos, facilitando a identificação de novos *hits* e *leads* no processo de descoberta de novos fármacos (LI; VEDERAS, 2009).

A utilização de estruturas privilegiadas é amplamente difundida na síntese de novos fármacos e obtenção de bibliotecas de compostos. Segundo Evans et al. (1988), o conceito de estruturas privilegiadas está relacionado com a capacidade de um *scaffold* acomodar em sua estrutura grupos farmacofóricos com possibilidade de ligação a múltiplos alvos.

Para o desenvolvimento de novos fármacos, características de *druglikness* ou *druggability* são fundamentais, indicando compostos com propriedades esperadas e/ou semelhantes aos fármacos. A Regra dos Cinco de Lipinski é um parâmetro muito utilizado, que avalia o coeficiente de partição, peso molecular, presença de grupos doadores e aceptores de elétrons, permitindo uma projeção da viabilidade oral dos fármacos propostos (Tabela 1) (LIPINSKI, et al., 2001; WERMUTH, 2008).

Tabela 1. Propriedades de *druglike*, Regra dos Cinco de Lipinski.

Regra dos Cinco de Lipinski	
Peso Molecular	< 500 Da
Presença grupos doadores de ligação de Hidrogênio (-OH, -NH ₂)	≤ 5
Presença grupos aceptores de ligação de Hidrogênio (-O, -N),	≤ 5
Log P	≤ 5

Fonte: autor.

As neolignananas são consideradas estruturas privilegiadas devido à sua versatilidade terapêutica, sendo *scaffolds* pré-validados e ponto de partida para o planejamento de bibliotecas de compostos sintéticos, sendo otimizadas através da utilização dos parâmetros de *druglike* como o descrito por Lipinski (WELSCH; SNYDER; STOCKWELL, 2010).

2.1 ESTRATÉGIAS DE MODIFICAÇÃO MOLECULAR NO PLANEJAMENTO DE NOVOS FÁRMACOS

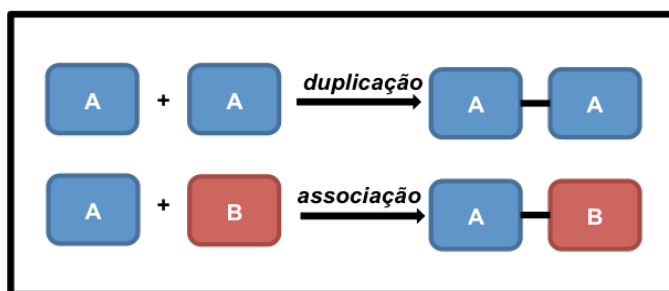
O bioisosterismo é uma estratégia de modificação estrutural amplamente utilizada no desenho de novos compostos visando à obtenção de análogos otimizados e consequentemente, mais seguros e efetivos (CIAPETTI; GIETHLEN, 2008).

Os conceitos sobre o bioisosterismo evoluíram com o avanço dos estudos em química medicinal, e em 1970, Alfred Burger o classificou em clássico (compostos com estruturas ou volume molecular igual ou semelhante com aproximadamente mesmo número de elétrons de valência, exibindo propriedades físico-químicas semelhantes) e não clássico (conceito mais amplo, priorizando as atividades biológicas semelhantes, independente de aspectos eletrônicos e estéricos) (PATANI; LAVOIE, 1996; BARREIRO; FRAGA, 2015).

A aplicação do bioisosterismo em anéis aromáticos é frequente no planejamento de fármacos, havendo a substituição destes por um bioisómero de forma a otimizar as estruturas e suas respectivas atividades biológicas (BARREIRO; FRAGA, 2015).

As substituições bioisostéricas são relevantes pois permitem aprimorar a farmacocinética (solubilidade/lipofilicidade), aumentar a seletividade em enzimas ou receptores, aumentar a estabilidade e minimizar efeitos adversos e toxicidade. Desta forma, é possível obter compostos otimizados, com maior potência e afinidade (MEANWELL, 2011; GAIKWAD et al., 2012).

A hibridização molecular é outra estratégia de modificação muito utilizada, que consiste em promover a união de dois grupos farmacofóricos iguais ou diferentes em uma mesma estrutura química. Os compostos obtidos por hibridização podem apresentar atividade dual, atuando em enzimas, receptores ou ambos ao mesmo tempo, ou ainda, os grupos farmacofóricos podem atuar de forma sinérgica, potencializando a atividade biológica (Esquema 1) (CONTRERAS; SIPPL, 2008; BARREIRO; FRAGA, 2015).



Esquema 1. Hibridização molecular entre grupos farmacofóricos idênticos e não idênticos.

Fonte: adaptado de CONTRERAS; SIPPL, 2008.

2.2 ANÉIS HETEROCÍCLICOS

Os compostos heterocíclicos são alvos de estudos em química medicinal, sendo considerados estruturas privilegiadas, devido à variedade de atividades biológicas apresentadas. Analisando as estruturas dos fármacos disponíveis no mercado, estima-se que 70% são anéis heterocíclicos, demonstrando a importância desta estrutura (TAYLOR; MACCOSS; LAWSON, 2014).

Os anéis heterocíclicos apresentam um ou mais heteroátomos em sua estrutura, como o nitrogênio, oxigênio e enxofre, porém outros átomos podem formar ligações covalentes estáveis fundamentais para a formação do anel, como o selênio e o boro, entre outros (QUIN; TYRELL, 2010; WELSCH; SNYDER; STOCKWELL, 2010).

Os azóis são compostos heterocíclicos de cinco membros, com átomos de nitrogênio e outro heteroátomo formando 1,2- azóis ou 1,3-azóis. Entre os azóis, destacam-se os triazóis e isoxazóis, com atividades biológicas diversas como antimicrobiana, anti-inflamatória e antiparasitária (KUMAR; JAYAROOPA, 2013; JOULE; MILLS, 2013).

Os isoxazóis são anéis heterocíclicos de cinco membros com oxigênio e nitrogênio nas posições 1 e 2, respectivamente, como constituintes do anel. As substituições nos anéis isoxazóis podem ocorrer nas posições 3, 4 e 5 (Figura 6) (QUILICO, 2008, QUIN; TYRELL, 2010; JOULE; MILLS, 2013; KUMAR; JAYAROOPA, 2013).

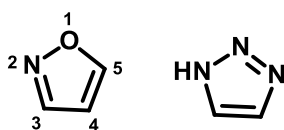
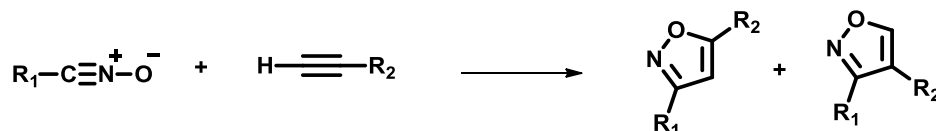


Figura 6. Anel isoxazol e triazol.

Os anéis isoxazóis podem ser obtidos através de reações de cicloadição [3+2], em que o composto 1,3-dipolo apresenta tanto caráter eletrofílico como nucleofílico (posições 1 e 3), enquanto o dipolarófilo geralmente utilizado é um alceno ou alcino (HUISGEN; SZEIMIES; MÖBIUS, 1967). Essas reações são pericíclicas, havendo a junção de dois sistemas π para formação de duas novas ligações σ . São também consideradas reações concertadas, por existir apenas um estado de transição, não formando compostos intermediários (Esquema 2) (HIMO et al., 2005).



Esquema 2. Mecanismo geral das reações de cicloadição entre óxido de nitrila e composto insaturado, para obtenção de anéis isoxazóis.

2.3 DO PLANEJAMENTO ESTRUTURAL À ATIVIDADE BIOLÓGICA

O planejamento de uma rota sintética é fundamental para obtenção de análogos sintéticos que podem ser considerados novos candidatos a fármacos. No entanto, são os ensaios biológicos responsáveis por determinar a aplicabilidade destes compostos.

Os ensaios biológicos *in vitro* são a primeira etapa da avaliação da atividade de novos análogos sintéticos. Através dos ensaios é possível obter uma estimativa de parâmetros como a potência, afinidade, eficácia além de viabilizar a discussão de possíveis mecanismos de ação (DOUGALL, 2015).

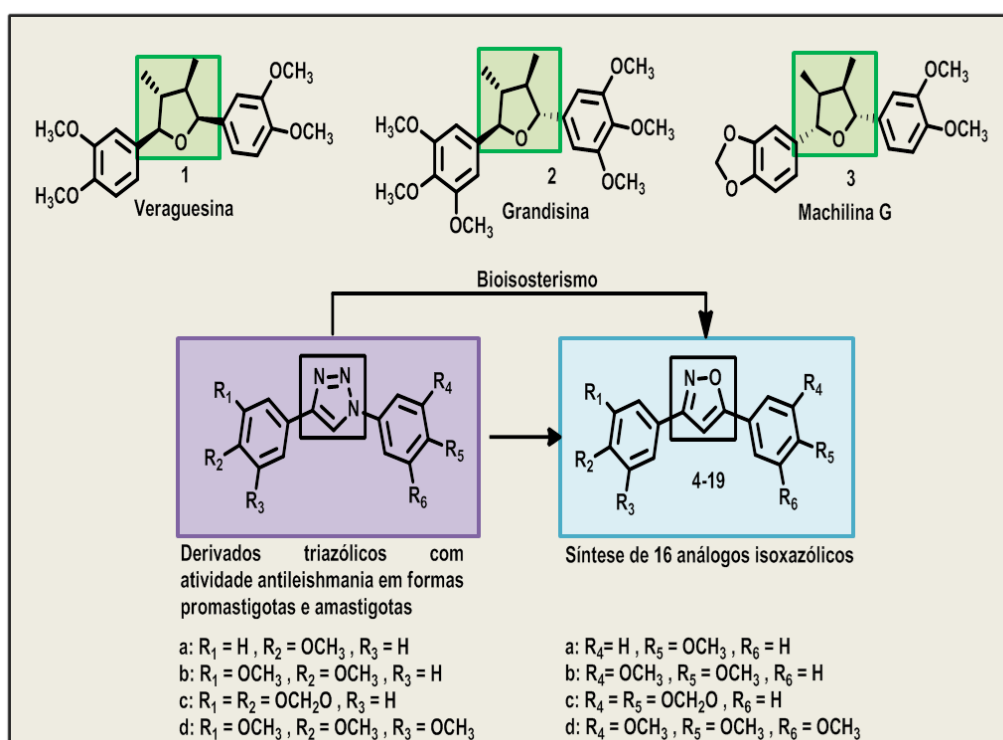
Estudos na área de química medicinal, para obtenção de compostos com atividade antileishmania, demonstram a essencial associação entre síntese e avaliação da atividade biológica para a obtenção de uma pesquisa completa. A informação obtida nos ensaios biológicos permite ainda o estudo da relação estrutura atividade dos compostos sintéticos (GRAHAM, 2013).

A síntese de compostos inspirados nas neolignanas tetrahidrofurânicas veraguensina, grandisina e machilina G é alvo de estudo do nosso grupo de pesquisa LASQUIM (Laboratório de Síntese e Química Medicinal - UFMS), em busca de novos candidatos à

fármacos para doenças negligenciadas, entre elas a leishmaniose.

Cassamale e colaboradores (2016), através do bioisosterismo como estratégia de modificação molecular, sintetizaram compostos triazólicos derivados das neolignan tetrahydrofurânicas citadas anteriormente. A atividade antileishmania dos compostos foi avaliada contra formas promastigotas *Leishmania (L.) amazonensis*, sendo mais ativos os análogos híbridos da machilina G com a grandisina e o derivado direto da machilina G para formas promastigotas. Costa et al. (2016), avaliou a atividade antileishmania dos análogos triazólicos em formas amastigotas intracelulares e os compostos mais ativos foram os híbridos trimetoxilados.

Nosso grupo de pesquisa, inspirado na síntese dos análogos triazólicos com atividades significativas, sintetizou através do bioisosterismo, análogos isoxazólicos com padrões de substituição presentes nas neolignanas (Esquema 3). A substituição bioisostérica permite a simplificação molecular das neolignanas, eliminando quatro centros quirais presentes no anel tetrahydrofurânico pelo anel isoxazólico, sendo este uma estrutura rígida. Desta forma, buscamos identificar se o anel isoxazol pode ser considerado bioisótero do núcleo triazol e avaliar a atividade antileishmania dos análogos sintetizados, em busca de compostos que constituam opções terapêuticas viáveis para as leishmanioses.



Esquema 3. Planejamento estrutural dos análogos isoxazólicos.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a atividade antileishmania de 16 análogos isoxazólicos **4-19** (Figura 7) das neolignan tetrahydrofurânicas veraguensina, grandisina e machilina G, previamente sintetizados.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a atividade *in vitro* dos análogos isoxazólicos, previamente sintetizados, contra as formas promastigotas de *Leishmania (Leishmania) amazonensis* e *Leishmania (Viannia) braziliensis*;
- Avaliar a atividade *in vitro* dos análogos isoxazólicos, previamente sintetizados, contra as formas tripomastigotas de *Trypanosoma cruzi*;
- Avaliar a atividade *in vitro* dos análogos isoxazólicos, previamente sintetizados, contra as formas amastigotas intracelulares de *Leishmania (Leishmania) amazonensis*;
- Avaliar o efeito citotóxico dos compostos isoxazólicos em células de mamífero (fibroblastos NIH/3T3), a fim de determinar sua seletividade para os parasitos;
- Avaliar a produção de óxido nítrico por macrófagos peritoneais infectados com *Leishmania (Leishmania) amazonensis*, tratados *in vitro* com diferentes concentrações dos análogos isoxazólicos sintetizados, para investigar possível mecanismo de ação leishmanicida.

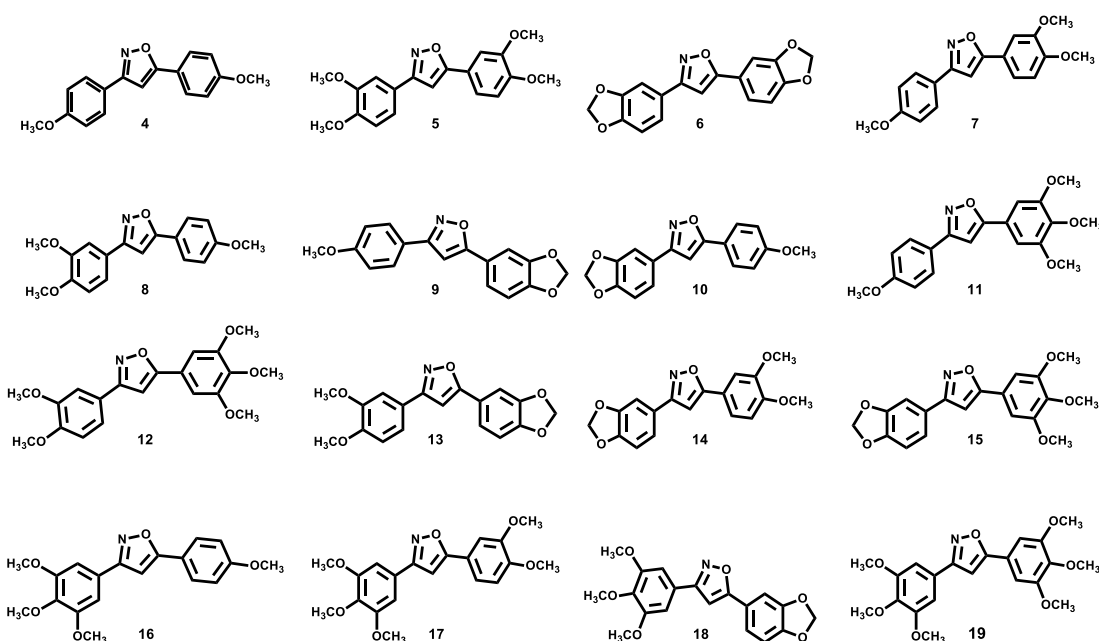


Figura 7. Análogos isoxazólicos com padrões de substituição presentes nas neolignanas tetrahydrofurânicas.

REFERÊNCIAS

AKHOUNDI, M. et al. A historical overview of the classification, evolution, and dispersion of *Leishmania* parasites and sandflies. **Plos Neglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 3, p.1-32, 2016. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0004349>.

ALVAR, J. et al. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. **Plos One**, v. 7, n. 5, p.1-20, 2012. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0035671>.

BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. **Química Medicinal: as bases moleculares da ação dos fármacos**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2015.

BASTOS, M. M. et al. Quimioterapia antileishmania: Uma revisão da literatura. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 6, 2016.

BORGHI, S.M. et al. *Leishmania* infection: painful or painless? **Parasitology Research**, v. 116, n. 2, p.465-475, 2016. <http://dx.doi.org/10.1007/s00436-016-5340-7>.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Manual de vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana. 2 ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2010.

BRASIL, Ministério da Saúde. Casos de Leishmaniose tegumentar no Brasil. Sinan/SVS/MS, <http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/marco/03/LT-Graficos-e-Mapas.pdf>, 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN). Casos de Leishmaniose Tegumentar no Brasil. Disponível em: <<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sinannet/cnv/ltabr.def>>. Acesso em: 17 Abr. 2017a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN). Casos de Leishmaniose no Estado de Mato Grosso do Sul. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sinannet/cnv/ltams.def>. Acesso em: 17 Abr. 2017b.

CASSAMALE, T.B. et al. Synthesis and antitrypanosomastid activity of 1,4-diaryl-1,2,3-triazole analogues of neolignans veraguensin, grandisin and machilin G. **Journal Of The Brazilian Chemical Society**, v.27, p. 1217-1228, 2016. <http://dx.doi.org/10.5935/0103-5053.20160017>

CDC. Center for Disease Control and Prevention. Leishmaniasis – Biology, 2013. Disponível em: <http://www.cdc.gov/parasites/leishmaniasis/>. Acesso em: 5 maio. 2017b.

CHEUKA, P.M. et al. The Role of Natural Products in Drug Discovery and Development against Neglected Tropical Diseases. **Molecules**. v. 22, 2017. doi:10.3390/molecules22010058

CIAPETTI, P; GIETHLEN, B. Molecular variations based on isosteric replacements. In: WERMUTH, Camille Georges. **The Practice of Medicinal Chemistry**. 3. ed. New York: Academic Press, 2008. Cap. 15. p. 290-342.

COELHO, L.I. et al. Characterization of *Leishmania spp.* causing cutaneous leishmaniasis in Manaus, Amazonas, Brazil. **Parasitol. Res.** v. 108, n. 3, p. 671-677, 2011. Disponível em: <http://doi.org/10.1007/s00436-010-2139-9>

COELHO-NETO, G.T. et al. Estudo epidemiológico de pacientes com leishmaniose tegumentar americana em Buriticupu, Pré-Amazônia maranhense. **Rev. Ciênc. Saúde**, v.14 n.2, p. 133-138, 2012.

CONTRERAS, J.M; SIPPL, W. Homo and heterodimer ligands: the twin drug approach. In: WERMUTH, C.G. **The Practice of Medicinal Chemistry**. 3. ed. Oxford: Elsevier, 2008, cap. 18, p. 380-414.

COSTA, E.C. et al. Antileishmanial activity and structure-activity relationship of triazolic compounds derived from the neolignans grandisin, veraguensin, and machilin G. **Molecules**, 2016, v. 21, doi: 10.3390/molecules21060802.

DAGNINO, A.P. et al. Leishmanicidal activity of lipophilic extracts of some *Hypericum* species. **Phytomedicine**. v. 22, n. 1, p.71-76, 2015.

DORLO, T.P.C. et al. Miltefosine: a review of its pharmacology and therapeutic efficacy in the treatment of leishmaniasis. **J Antimicrob Chemother.** p. 2576-2597, 2012.

DOUGALL, I.G. In vitro Biology: Measuring pharmacological activity. In: DAVIS, A. & WARD, E.S. **The Handbook of Medicinal Chemistry. Principles and Practice**. Royal society of chemistry, 2015, cap. 11, p. 292-308.

EVANS, W.C. **Trease and evans: Pharmacognosy**. 16. ed, Saunders Elsevier, 2009.

EVANS, B.E. et al. Methods for drug discovery: development of potent, selective, orally effective cholecystokinin antagonists. **J Med Chem.**, p. 2235-2246. jan. 1988.

GAIKWAD, P.L. et al. The use of bioisosterism in drug design and molecular modification. **Am. J. Pharmtech Res.**, p. 1-23. 2012.

GRAHAM, L.P. Drug Discovery: Finding the Lead. In: **An Introduction to Medicinal Chemistry**. 5. ed., Oxford, 2013, cap. 12, p. 189-212.

GOTO, H.; LINDOSO, J.A.L. Current diagnosis and treatment of cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. **Expert Rev. Anti Infect. Ther.**, v. 4, n. 8, p. 419-433, 2010.

HALDAR, A.K.; SEN, P.; ROY, S. Use of antimony in the treatment of leishmaniasis: current status and future directions. **Molecular Biology International**, v. 2011, n. 01, p.1-23, 2011. <http://dx.doi.org/10.4061/2011/571242>.

HANDLER, M.Z. et al. Cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. **Journal Of The American Academy Of Dermatology**, v. 73, p. 911-926, 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaad.2014.09.014>.

HARVEY, A.L., EDRADA-EBEL, R., QUINN, R.J. The re-emergence of natural products for drug discovery in the genomics era. **Nat Rev Drug Discov**. v. 14, p. 111–129, 2015.

HIMO, F. et al. Copper (i)-catalyzed synthesis of azoles. dft study predicts unprecedented reactivity and intermediates. **Am. Chem. Soc.**, v.127, p. 210–216, 2005.

HUISGEN, R.; SZEIMIES, G.; MÖBIUS, L. 1.3-dipolare Cycloadditionen, II. Kinetik der Additionen organischer Azide an CC-Mehrfachbindungen. **Chem. Ber.**, v.100, p. 2494–2507, 1967.

JOULE, J.; MILLS, K. **Heterocyclic chemistry at a glance**. 2. ed. Uk: John Wiley & Sons, Ltd, 2013. 230 p.

KIMA, P.E. The amastigotes forms of *Leishmania* are experts at exploiting host cell processes to establish infection and persist. **International Journal For Parasitology**, v. 37, n. 10, p.1087-1096, 2007. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpara.2007.04.007>.

KLUG, D.M.; GELB, M.H.; POLLASTRI, M.P. Repurposing strategies for tropical disease drug discovery. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 26, n. 11, p.2569-2576, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2016.03.103>

KUMAR, A.; JAYAROOPA, P. Isoxazoles: molecules with potential medicinal properties. **International Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Sciences**, v.3, p. 294-304, 2013.

LAMOTTE, S. et al. The enemy within: targeting host–parasite interaction for antileishmanial drug discovery. **Plos Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 6, p.1-12, 2017. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0005480>.

LI, J.W.H.; VEDERAS, J.C. Drug discovery and natural products: end of an era or an endless frontier? **Science**. p. 161-165, 2009.

LINDOSO, J.A.L. et al. Review of the current treatments for leishmaniasis. **Research And Reports In Tropical Medicine**, v. 3, n. 12, p.69-77, 2012. <http://dx.doi.org/10.2147/rrtm.s24764>.

LIPINSKI, C.A. et al, Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Advanced Drug Delivery Reviews**. Rev.46, p. 3-26, 2001. [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(00\)00129-0](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(00)00129-0)

MACHADO-SILVA, A. et al. New perspectives for leishmaniasis chemotherapy over current antileishmanial drugs: a patent landscape. **Expert Opinion On Therapeutic Patents**, v. 25, n. 3, p.247-260, 2014. <http://dx.doi.org/10.1517/13543776.2014.993969>.

MACKEY, T.K. et al. Emerging and reemerging neglected tropical diseases: a review of key characteristics, risk factors, and the policy and innovation environment. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 4, n. 27, p. 949-979, 2014. doi: 10.1128/CMR.00045-14.

MATHUR, S.; HOSKINS, C. Drug development: lessons from nature (Review). **Biomedical Reports**, v. 6, n. 1, p.612-614, 2017. <http://dx.doi.org/10.3892/br.2017.909>.

MEANWELL, N.A. Synopsis of some recent tactical application of bioisosteres in drug design. **Journal Of Medicinal Chemistry**, v. 54, n. 8, p.2529-2591, 2011. <http://dx.doi.org/10.1021/jm1013693>.

MENEZES, J.P.; SARAIVA, E.M.; ROCHA-AZEVEDO, B. The site of the bite: *Leishmania* interaction with macrophages, neutrophils and the extracellular matrix in the dermis. **Parasites & Vectors**, v. 9, n. 1, p.1-8, 2016. <http://dx.doi.org/10.1186/s13071-016-1540-3>.

NEWMAN, D.J.; CRAGG, G.M. Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. **Journal Of Natural Products**, v. 79, n. 3, p.629-661, 2016. <http://dx.doi.org/10.1021/acs.jnatprod.5b01055>.

NO, J.H. Visceral leishmaniasis: Revisiting current treatments and approaches for future discoveries. **Acta Tropica.**, p. 113-123, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2015.12.016>

OLIVEIRA, L.F. et al. Systematic review of the adverse effects of cutaneous leishmaniasis treatment in the New World. **Acta Trop.**, v. 118, p.87-96, 2011. <http://doi.org/10.1016/j.actatropica.2011.02.007>

PATANI, G.A.; LAVOIE, E.J. Bioisosterism: a rational approach in drug design. **Chem. Rev.** p. 3147-3176, 1996.

PYE, C.R. et al. Retrospective analysis of natural products provides insights for future discovery trends. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. v. 114, p. 5601-5606, 2017. www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1614680114

QUILICO, A. Isoxazoles and related compounds. In: *Chemistry of heterocyclic compounds: five- and six-membered compounds with Nitrogen and Oxygen (excluding oxazoles)*. Estados Unidos: John Wiley & Sons, Inc., 2008. v.17.

QUIN, L.D.; TYRELL, J.A. **Fundamentals of heterocyclic chemistry: importance in nature and in the synthesis of pharmaceuticals**. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., Publication, 2010. 323 p.

REITHINGER, R. et al. Cutaneous leishmaniasis. **Lancet Infect. Dis.** v.7, p. 581- 596, 2007.

RIBEIRO, S.S. et al. Evaluation of the Cytotoxic Activity of Some Brazilian Medicinal Plants. **Plant. Med.** v.78, p. 1601–1606, 2012.

SEIFERT, K. Structures, targets and recent approaches in anti-leishmanial drug discovery and development. **The Open Medicinal Chemistry Journal**, v. 1, n. 5, p.31-39, 2011.

SINGH, N.; KUMAR, M.; SINGH, R. K. Leishmaniasis: Current status of available drugs and new potential drug targets. **Asian Pacific Journal Of Tropical Medicine**. p. 485-497. 2012.

SINGH, N. et al. Natural product based leads to fight against leishmaniasis. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 22, n. 1, p.18-45 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2013.11.048>.

SILVA FILHO, A.A. et al. In vitro antileishmanial and antimalarial activities of tetrahydrofuran lignans isolated from *Nectandra megapotamica* (Lauraceae). **Phytotherapy Research**. v. 22 p. 1307-1310, 2008. doi:10.1002/ptr.2486

SUNDAR, S. et al. Efficacy of miltefosine in the treatment of visceral leishmaniasis in India after a decade of use. **Clin. Infect. Dis.** v. 55, p. 543-550, 2012. doi: 10.1093/cid/cis474

TAYLOR, R. D.; MACCOSS, M.; LAWSON, A. D. G. Rings in drugs. **J. Med. Chem.** v. 57, p. 5845-5859, 2014. dx.doi.org/10.1021/jm4017625

WELSCH, M. E.; SNYDER, S. A; STOCKWELL, B. R. Privileged scaffolds for library design and drug discovery. v. 14, n. 3, p. 347–361, 2010. doi:10.1016/j.cbpa.2010.02.018

WERMUTH, C.G. The practice of medicinal chemistry. 3 ed. Elsevier, Oxford, 2008. 942 p.

WILLIE, S.; CUNNINGHAM, M. L; FAIRLAMB, A. H. Dual action of antimonial drugs on thiol redox metabolism in the human pathogen *Leishmania donovani*. **J.Biol. Chem**, v. 279, n. 38, p. 399925-39932, sep. 2004.

WHO. World Health Organization (WHO). Leishmaniasis. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/en/>. Acesso em 05 de maio de 2017.

WHO. World Health Organization (WHO). Leishmaniasis in high-burden countries: an epidemiological update based on data reported in 2014. v.91, n.22, 2016.

WHO. World Health Organization (WHO). Manual for case management of cutaneous leishmaniasis in the WHO Eastern Mediterranean region, Cairo/Egito. v. 35, 2014.

WHO. World Health Organization. Ten years in public health (2007-2017): The neglected tropical diseases: a rags-to-riches stories. p. 73-80, 2017b. Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/255355/1/9789241512442-eng.pdf?ua=1>

WHO. World Health Organization (WHO). Leishmaniasis. 2018. <http://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis> Acesso em 31 de maio de 2018.