

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
FACULDADE DE FARMÁCIA**

MARIA EDUARDA ALMEIDA

**PLANEJAMENTO, SÍNTESE E AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA DE NOVOS
CANDIDATOS A PROTÓTIPOS DE FÁRMACOS ANTI-LEISHMANIOSE**

GOIÂNIA/GO
2026

Rua 240, esquina com 5ª Avenida,
s/nº - Setor Leste Universitário
CEP 74605-170 - Goiânia - Goiás - Brasil.

Fone: (62) 3209-6044
Site: <http://farmacia.ufg.br>



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
FACULDADE DE FARMÁCIA

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DE GRADUAÇÃO NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio do Repositório Institucional (RI/UFG), regulamentado pela Resolução CEPEC no 1240/2014, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei no 9.610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

O conteúdo dos Trabalhos de Conclusão dos Cursos de Graduação disponibilizado no RI/UFG é de responsabilidade exclusiva dos autores. Ao encaminhar(em) o produto final, o(s) autor(a)(es)(as) e o(a) orientador(a) firmam o compromisso de que o trabalho não contém nenhuma violação de quaisquer direitos autorais ou outro direito de terceiros.

1. Identificação do Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação (TCCG)

Nome(s) completo(s) do(a)(s) autor(a)(es)(as): Maria Eduarda Almeida

Título do trabalho: "PLANEJAMENTO, SÍNTESE E AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA DE NOVOS CANDIDATOS A PROTÓTIPOS DE FÁRMACOS ANTI-LEISHMANIOSE"

2. Informações de acesso ao documento (este campo deve ser preenchido pelo orientador) **Concorda com a liberação total do documento [x] SIM [] NÃO¹**

[1] Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. Após esse período, a possível disponibilização ocorrerá apenas mediante: a) consulta ao(à)(s) autor(a)(es)(as) e ao(à) orientador(a); b) novo Termo de Ciência e de Autorização (TECA) assinado e inserido no arquivo do TCCG. O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;

- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro.

Obs.: Este termo deve ser assinado no SEI pelo orientador e pelo autor.



Documento assinado eletronicamente por **Antonio Alonso, Professor do Magistério Superior**, em 20/05/2026, às 21:21, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Maria Eduarda Almeida, Discente**, em 01/06/2026, às 11:39, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **6209757** e o código CRC **49A0424B**.

MARIA EDUARDA ALMEIDA

**Planejamento, síntese e avaliação farmacológica de novos candidatos a
protótipos de fármacos anti-leishmaniose**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao curso de Farmácia da
Universidade Federal de Goiás, como
requisito parcial para a obtenção do título
de Bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Alonso

GOIÂNIA/GO
2026

Almeida, Maria Eduarda

Planejamento, síntese e avaliação farmacológica de novos candidatos a protótipos de fármacos anti-leishmaniose [Manuscrito] = Design, synthesis and pharmacological evaluation of novel anti-leishmaniasis drug prototype candidates / Maria Eduarda Almeida. - 2026.

65 f.: il. 2026

Orientador: Prof. Dr. Antonio Alonso

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Goiás, Faculdade Farmácia (FF), Farmácia, Goiânia, 2026.

Ilustrações.

Anexo.

Bibliografia.

Inclui: siglas, tabelas.

1. Leishmaniose. 2. Estresse Oxidativo. 3. Rigidez de Membrana. 4. Espectroscopia de RPE. 5. Fármaco.

I. Alonso, Antonio, orient. II. Título.

CDU 615.1



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
FACULDADE DE FARMÁCIA

ATA DE DEFESA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Ao primeiro dia do mês de junho do ano de 2026 iniciou-se a sessão pública de defesa do Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) intitulado “Planejamento, síntese e avaliação farmacológica de novos candidatos a protótipos de fármacos anti-leishmaniose”, de autoria de Maria Eduarda Almeida, do curso de Farmácia, da Faculdade de Farmácia da UFG. Os trabalhos foram instalados pelo Prof. Dr. Antonio Alonso – orientador IF/UFG com a participação dos demais membros da Banca Examinadora: MSc. Jhon Kennedy Alves Pereira - FF/UFG e Prof. Dr. Luís Antônio Dantas Silva - FF/UFG. Após a apresentação, a banca examinadora realizou a arguição da estudante. Posteriormente, de forma reservada, a Banca Examinadora atribuiu a nota final de 10,0 (dez), tendo sido o TCC considerado aprovado.

Proclamados os resultados, os trabalhos foram encerrados e, para constar, lavrou-se a presente ata que segue assinada pelos Membros da Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Antonio Alonso, Professor do Magistério Superior**, em 10/06/2026, às 09:15, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Jhon Kennedy Alves Pereira, Discente**, em 10/06/2026, às 16:24, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Luis Antonio Dantas Silva, Professor do Magistério Superior**, em 11/06/2026, às 14:35, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **6252721** e o código CRC **944BA610**.

PLANEJAMENTO, SÍNTESE E AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA DE NOVOS CANDIDATOS A PROTÓTIPOS DE FÁRMACOS ANTI-LEISHMANIOSE

Maria Eduarda Almeida¹; Antonio Alonso²; Ricardo Menegatti¹

¹Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Goiás

²Instituto de Física, Universidade Federal de Goiás

RESUMO

A leishmaniose é uma doença tropical negligenciada, presente em mais de 90 países e causada por diferentes espécies do gênero *Leishmania*. Em particular, *L. amazonensis* é associada a formas cutâneas, incluindo manifestações difusas graves. O tratamento atual envolve fármacos como antimoniais pentavalentes, anfotericina B e miltefosina (MIL), mas estes apresentam limitações como toxicidade, custo elevado e resistência crescente. A MIL, um fosfolípídeo sintético com propriedades tensoativas, afeta a dinâmica da membrana plasmática do parasita por estresse osmótico, associando o vazamento iônico à produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e à rigidez da membrana. Efeitos semelhantes têm sido observados em compostos análogos de zwitteriônicos, como o N-hexadecil-N,N-dimetil-3-amônio-1-propanossulfonato (HPS), o que reforça o interesse no desenvolvimento de novos análogos com potencial atividade anti-leishmaniose. Nesse contexto, o objetivo deste estudo foi planejar e sintetizar novos candidatos a protótipos de fármacos anti-leishmaniose derivados estruturalmente do HPS e do 2,6-di-*tert*-butilfenol (BHT), bem como avaliar suas atividades frente a *L. amazonensis* e investigar seus mecanismos de ação por meio da espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica (RPE). O composto (5) foi obtido através da reação de Mannich entre BHT, formaldeído e dimetilamina, em meio ácido. Na etapa seguinte, o composto (5) foi submetido à reação com 1,3-propanossulfona em acetonitrila, resultando no composto final (3). A atividade antiproliferativa frente às formas promastigotas de *L. amazonensis* foi avaliada pelo ensaio colorimétrico com brometo de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazólio, enquanto os estudos mecanísticos foram conduzidos em promastigotas em fase estacionária tratadas com MIL e com os compostos (3) e (5), marcadas com o spin 5-DSA e analisadas por RPE, visando avaliar alterações na dinâmica molecular da membrana plasmática. Os compostos (3) e (5) foram obtidos através de duas etapas sintéticas e tiveram suas estruturas elucidadas por espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear. Os ensaios de antiproliferativos demonstraram que, embora os compostos (3) e (5) apresentem efeito inibitório sobre promastigotas de *L. amazonensis*, seus valores de IC₅₀ foram superiores aos da MIL, indicando menor potência *in vitro*. Por outro lado, os espectros de RPE evidenciaram que a MIL e os compostos (3) e (5) promoveram aumento do parâmetro 2A_{||}, sugerindo um mecanismo de ação associado à interação com a membrana plasmática, flutuações nos potenciais elétricos celular e mitocondrial, geração de EROs e enrijecimento da membrana decorrente do estresse oxidativo. Conclui-se que o planejamento e a síntese de novos derivados estruturais dos compostos (3) e (5), com aumento da lipofilicidade, configuram uma estratégia promissora para potencializar a interação com a bicamada lipídica, contribuindo para o desenvolvimento de protótipos de fármacos anti-leishmaniose mais potentes e seletivos.

Palavras-chave: Leishmaniose; *L. amazonensis*; estresse oxidativo; rigidez de membrana; espectroscopia de RPE; miltefosina; fármaco.

DESIGN, SYNTHESIS AND PHARMACOLOGICAL EVALUATION OF NOVEL ANTI-LEISHMANIASIS DRUG PROTOTYPE CANDIDATES

Maria Eduarda Almeida¹; Antonio Alonso²; Ricardo Menegatti¹

¹Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Goiás

²Instituto de Física, Universidade Federal de Goiás

ABSTRACT

Leishmaniasis is a neglected tropical disease present in more than 90 countries and caused by different species of the genus *Leishmania*. In particular, *L. amazonensis* is associated with cutaneous forms, including severe diffuse manifestations. Current treatment involves drugs such as pentavalent antimonials, amphotericin B, and miltefosine (MIL), but these present limitations such as toxicity, high cost, and increasing resistance. MIL, a synthetic phospholipid with surfactant properties, affects the parasite's plasma membrane dynamics through osmotic stress, linking ionic leakage to the production of reactive oxygen species (ROS) and membrane rigidity. Similar effects have been observed for zwitterionic analog compounds, such as N-hexadecyl-N,N-dimethyl-3-ammonio-1-propanesulfonate (HPS), which reinforces the interest in developing new analogs with potential anti-leishmanial activity. In this context, this study aimed to plan and synthesize novel anti-leishmaniasis drug prototype candidates structurally derived from HPS and 2,6-di-*tert*-butylphenol (BHT), as well as to evaluate their activity against *L. amazonensis* and investigate their mechanisms of action through Electron Paramagnetic Resonance (EPR) spectroscopy. Compound (**5**) was obtained through a Mannich reaction between BHT, formaldehyde, and dimethylamine in an acidic medium. In the following step, compound (**5**) was reacted with 1,3-propanesultone in acetonitrile, resulting in the final compound (**3**). The antiproliferative activity against *L. amazonensis* promastigotes was using the 3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide colorimetric assay, while mechanistic studies were performed on stationary-phase promastigotes treated with MIL and compounds (**3**) and (**5**), labeled with the 5-DSA spin probe and analyzed by EPR to assess alterations in plasma membrane molecular dynamics. Compounds (**3**) and (**5**) were obtained through two synthetic steps, and their structures were elucidated by Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy. Antiproliferative assays demonstrated that although compounds (**3**) and (**5**) showed inhibitory effects on *L. amazonensis* promastigotes, their IC₅₀ values were higher than those of MIL, indicating lower *in vitro* potency. Conversely, EPR spectra showed that MIL and compounds (**3**) and (**5**) promoted an increase in the 2A_{||} parameter, suggesting a mechanism of action associated with plasma membrane interaction, fluctuations in cellular and mitochondrial electrical potentials, ROS generation, and membrane rigidity resulting from oxidative stress. It is concluded that the planning and synthesis of new structural derivatives of compounds (**3**) and (**5**) with increased lipophilicity represent a promising strategy to enhance interaction with the lipid bilayer, contributing to the development of more potent and selective anti-leishmanial drug prototypes.

Keywords: Leishmaniasis; *L. amazonensis*; oxidative stress; membrane rigidity; EPR spectroscopy; miltefosine; drug.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Esquemas

Esquema 1 - Planejamento estrutural do composto LQFM 425 (3).	39
Esquema 2 - Rota sintética para a formação do composto LQFM 425 (3).	40

Figuras

Figura 1 - Morfologias da parasita <i>Leishmania</i> : (A) Forma promastigota. (B) Promastigotas por microscopia eletrônica de varredura. (C) Forma amastigota. (D) Amastigotas por microscopia eletrônica de varredura.	16
Figura 2 - Mosquito fêmea adulta do gênero <i>Lutzomyia</i>	17
Figura 3 - Ciclo de transmissão completo de <i>Leishmania</i> spp. em humanos.	18
Figura 4 - Painéis de controle de novos casos de LV e LT no Brasil.	21
Figura 5 - Manifestações clínicas da LC: formas localizadas (A: úlcera no tornozelo; B: lesão com borda endurecida na face) e formas difusas (C: lesões nodulares disseminadas; D: placas infiltradas nas mãos com deformidade e exulceração secundária).	24
Figura 6 - Manifestações clínicas da LMC: (A) Perfuração do septo nasal. (B) Lesões mucosas extensas com ulcerações, crostas sero-hemáticas, edema e infiltração granulomatosa envolvendo palato e lábio superior.	25
Figura 7 - Manifestações clínicas da LV: (A) Hepatoesplenomegalia. (B) Equimose extensa no antebraço.	26
Figura 8 – Representação esquemática das estruturas químicas dos Sb ⁵⁺	27
Figura 9 - Representação esquemática da estrutura química da AmB.	29
Figura 10 - Representação esquemática da estrutura química da MIL.	30
Figura 11 - Representação esquemática da estrutura química da PMM.	31
Figura 12 - Representação esquemática da estrutura química da pentamidina.	32
Figura 13 - Representação esquemática da estrutura química do HPS.	33
Figura 14 - Espectrômetro de RPE do Laboratório de Biofísica, localizado no Instituto de Física da UFG.	35
Figura 15 - Representação esquemática da estrutura química do marcador de spin 5-DSA.	36
Figura 16 - Representação química da conversão de MTT em formazan.	42
Figura 17 - Estruturas químicas dos derivados acrílicos.	49

Figura 18 - Espectros representativos de RPE do marcador de spin 5-DSA inserido na membrana plasmática de promastigotas de *L. amazonensis* após 24 h de cultivo a partir do 6º dia para amostras sem tratamento (controle) e tratadas com MIL, LQFM 424 (5) e LQFM 425 (3) nas concentrações indicadas. Os valores médios $\pm$ D.P. do parâmetro de RPE 2A_{II} (desdobramento hiperfino externo) estão indicados para cada espectro. Este parâmetro de mobilidade, que é medido diretamente no espectro RPE, é dado pela separação de valores de campo magnético entre o primeiro pico de ressonância e o último pico invertido. As linhas verticais verdes indicam a separação entre os picos para o espectro de controle, enquanto as linhas vermelhas mostram que os espectros das amostras tratadas têm maior separação. Significância estatística (S): As médias indicadas por mesma letra maiúscula não são significativamente diferentes com $P < 0,05$. As setas azuis indicam linhas de ressonância estreitas que correspondem aos marcadores que não entraram na membrana, ficando livres na solução fora da célula.51

Figura 19 - Esquematização do mecanismo de ação leishmanicida dos compostos LQFM 424 (5) e LQFM 425 (3): proposta de cascata biológica iniciada pela interação com a membrana plasmática, seguida de flutuações nos potenciais elétricos das membranas celular e mitocondrial, geração de EROs e aumento da rigidez da membrana plasmática decorrente do estresse oxidativo.54

Gráficos

Gráfico 1 - Distribuição de casos conformados de LTA no Brasil e no estado de Goiás nos últimos cinco anos.22

Gráfico 2 - Distribuição de casos conformados de LV no Brasil e no estado de Goiás nos últimos cinco anos.22

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Parâmetros <i>in silico</i> das propriedades físico-químicas.	44
Tabela 2 - Aspectos gerais dos compostos LQFM 424 (5) e LQFM 425 (3).	45
Tabela 3 - Deslocamentos químicos de RMN de ^1H do composto LQFM 424 (5) em CDCl_3	46
Tabela 4 - Deslocamentos químicos de RMN de ^1H e ^{13}C do composto LQFM 425 (3) em CD_3OD	47
Tabela 5 - Avaliação da atividade antiproliferativa dos compostos LQFM 424 (5) e LQFM 425 (3) frente às formas promastigotas de <i>L. amazonensis</i> em comparação com a MIL.	50

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

^{13}C	Carbono
^1H	Hidrogênio
2A//	Desdobramento hiperfino
5-DSA	ácido 5-doxil-esteárico
AmB	Anfotericina B
BHT	Butil-hidroxitolueno
CD_3OD	Metanol deuterado
CDCl_3	Clorofórmio deuterado
DMSO	Dimetilsulfóxido
DTN	Doença Tropical Negligenciada
EROs	Espécies reativas de oxigênio
HPS	N-hexadecil-N,N-dimetil-3-amônio-1-propanossulfonato
IC_{50}	Concentração inibitória média
IL	Intralesional
IM	Intramuscular
IPTSP	Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública
IQ	Instituto de Química
IV	Intravenosa
LC	Leishmaniose cutânea
LM	Leishmaniose mucosa
LMC	Leishmaniose mucocutânea
LT	Leishmaniose tegumentar
LTA	Leishmaniose tegumentar americana
LV	Leishmaniose visceral
MIL	Miltefosina
MTT	Brometo de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5- difenil-2H-tetrazólio
OPAS	Organização Pan-Americana da Saúde
PMM	Paromomicina
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RPE	Ressonância Paramagnética Eletrônica
Sb^{3+}	Antimônio trivalente
Sb^{5+}	Antimoniais pentavalentes

SN2	Substituição nucleofílica bimolecular
UFG	Universidade Federal de Goiás
$\Delta\psi_m$	Potencial da membrana mitocondrial interna

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
1.1	Leishmaniose: definição e transmissão	16
1.2	Epidemiologia e impacto social das leishmanioses	19
1.3	Manifestações clínicas das leishmanioses.....	23
1.4	Tratamento farmacológico e mecanismo de ação	27
1.5	Surfactante zwitteriônico HPS	33
1.6	Espectroscopia de RPE	34
1.7	Justificativa.....	37
2	OBJETIVOS	38
2.1	Objetivos Gerais	38
2.2	Objetivos Específicos	38
3	METODOLOGIA.....	39
3.1	Planejamento estrutural do composto LQFM 425 (3).....	39
3.2	Rota sintética	39
3.2.1	Síntese do 2,6-di- <i>tert</i> -butil-4-((dimetilamina)metil)fenol - LQFM 424 (5)	40
3.2.2	Síntese do 3-((3,5-di- <i>tert</i> -butil-4-hidroxibenzil)dimetilamônio)propano-1-sulfonato - LQFM 425 (3).....	40
3.3	Elucidação estrutural	41
3.4	Cultivo de parasitas.....	41
3.5	Viabilidade celular de promastigotas <i>L. amazonensis</i> pelo ensaio MTT.	41
3.6	Preparação e marcação das amostras para a espectroscopia de RPE de promastigotas <i>L. amazonensis</i>	43
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	44
4.1	Análise de propriedades físico-químicas e farmacocinéticas.....	44
4.2	Síntese e aspectos gerais dos compostos sintetizados.....	44
4.3	Elucidação estrutural	45
4.3.1	Análise de RMN de ¹ H para o composto LQFM 424 (5).....	45
4.3.2	Análise de RMN de ¹ H e de ¹³ C para o composto LQFM 425 (3).....	47
4.4	Atividade antiproliferativa com promastigotas <i>L. amazonensis</i>	49
4.5	Efeitos na dinâmica molecular da membrana avaliados por RPE	50
4.6	Proposição do mecanismo de ação dos compostos LQFM 424 (5) e LQFM 425 (3)	52

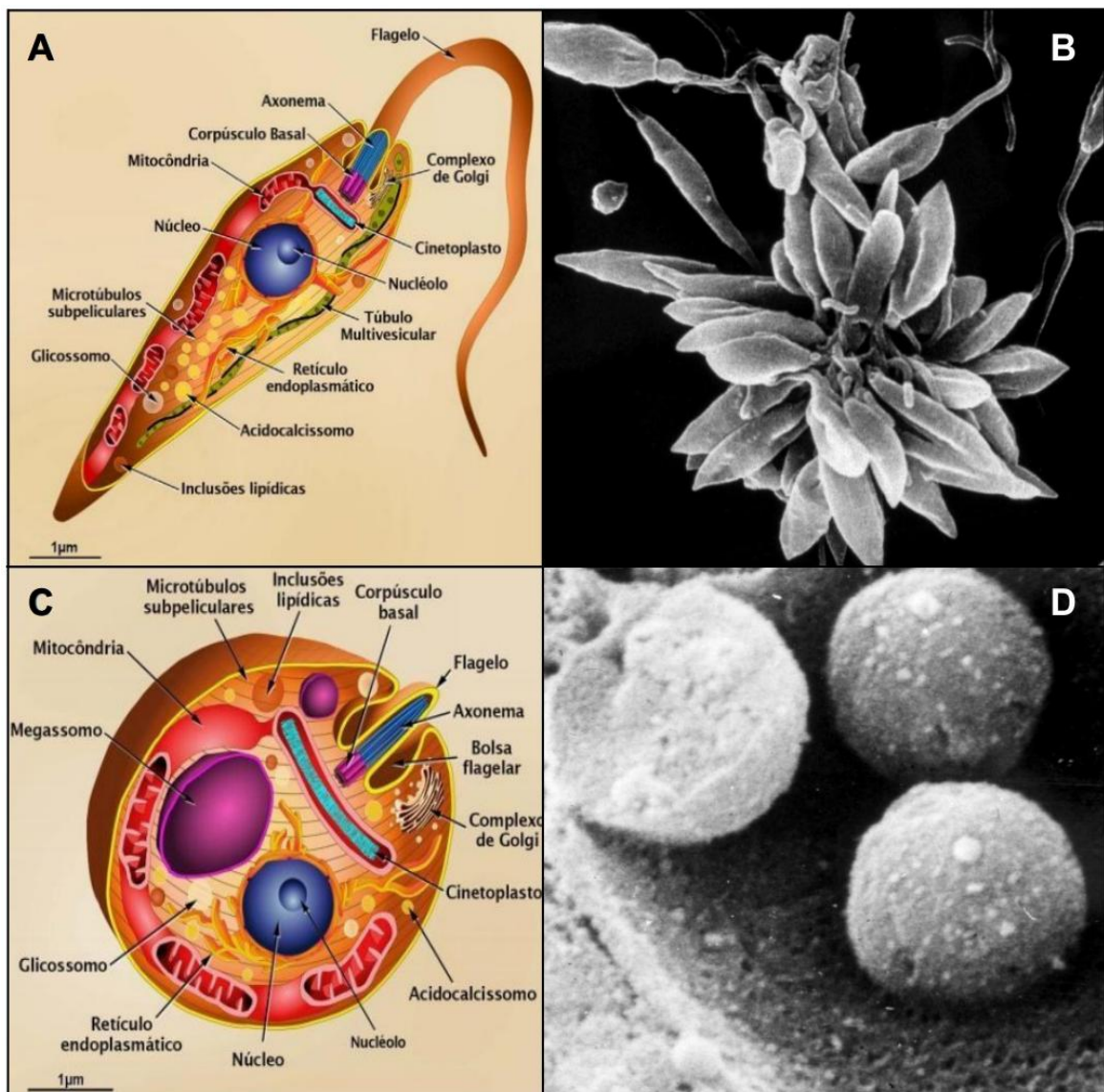
5 CONCLUSÃO.....	56
REFERÊNCIAS	57
ANEXOS.....	63
ANEXO A – Espectro de RMN de ^1H do composto LQFM 424 (5) em CDCl_3..	63
ANEXO B – Espectro de RMN de ^1H do composto LQFM 425 (3) em CD_3OD.	63
ANEXO C – Espectro de RMN de ^{13}C do composto LQFM 425 (3) em CD_3OD.	64
ANEXO D – Espectro de RMN de HSQC do composto LQFM 425 (3) em CD_3OD.....	64
ANEXO E – Espectro de RMN de HMBC do composto LQFM 425 (3) em CD_3OD.....	65
ANEXO F – Normas da Revista Biochimica et Biophysica Acta (BBA).....	65

1 INTRODUÇÃO

1.1 Leishmaniose: definição e transmissão

As leishmanioses constituem um conjunto de doenças antroponozoonóticas causadas por mais de 20 espécies de parasitas do gênero *Leishmania* [1,2]. O agente etiológico (*Leishmania* spp.) é um protozoário intracelular das células do sistema fagocítico mononuclear, apresentando duas formas principais: a flagelada ou promastigota, encontrada no trato digestivo do vetor, e a aflagelada ou amastigota, presente nos tecidos dos hospedeiros vertebrados [3] (Figura 1).

Figura 1 - Morfologias da parasita *Leishmania*: (A) Forma promastigota. (B) Promastigotas por microscopia eletrônica de varredura. (C) Forma amastigota. (D) Amastigotas por microscopia eletrônica de varredura.



Fonte: adaptado de [1, 4].

A transmissão da leishmaniose ocorre exclusivamente pela picada da fêmea de flebotomíneos infectados, mosquitos hematófagos pertencentes à ordem *Diptera*, família *Psychodidae* e subfamília *Phlebotominae*, dos gêneros *Phlebotomus* (Velho Mundo) e *Lutzomyia* (Novo Mundo) [5]. Os flebotomíneos do gênero *Lutzomyia*, amplamente distribuídos nas Américas, são conhecidos por diferentes nomes dependendo da região, como mosquito-palha, tatuquira, asa branca, cangalhinha e birigui, entre outros, e atuam como principais vetores da leishmaniose [3,6].

Estima-se que, das aproximadamente 800 espécies descritas de flebotomíneos, apenas cerca de 30 são capazes de transmitir parasitas do gênero *Leishmania* [7]. No Brasil, o principal vetor da leishmaniose visceral (LV) é *Lutzomyia longipalpis*, enquanto a transmissão da leishmaniose tegumentar (LT) está predominantemente associada às espécies *Lu. flaviscutellata*, *Lu. whitmani*, *Lu. umbratilis*, *Lu. intermedia*, *Lu. wellcomei* e *Lu. Migonei* [3,6]. Com cerca 2 a 3 mm de comprimento, esses vetores apresentam corpo delgado, coberto por pelos finos, e coloração que varia entre amarelo e marrom (Figura 2) [7]. Eles habitam regiões intertropicais e temperadas e depositam seus ovos em ambientes ricos em matéria orgânica, incluindo tocas de roedores, cascas de árvores, ruínas, rachaduras de paredes, abrigos de animais e lixo doméstico [7]. As fêmeas necessitam de sangue para o desenvolvimento dos ovos e, por serem mais ativas ao entardecer e durante a noite, podem percorrer distâncias consideráveis a partir de seu habitat em busca de um hospedeiro para o repasto sanguíneo [7].

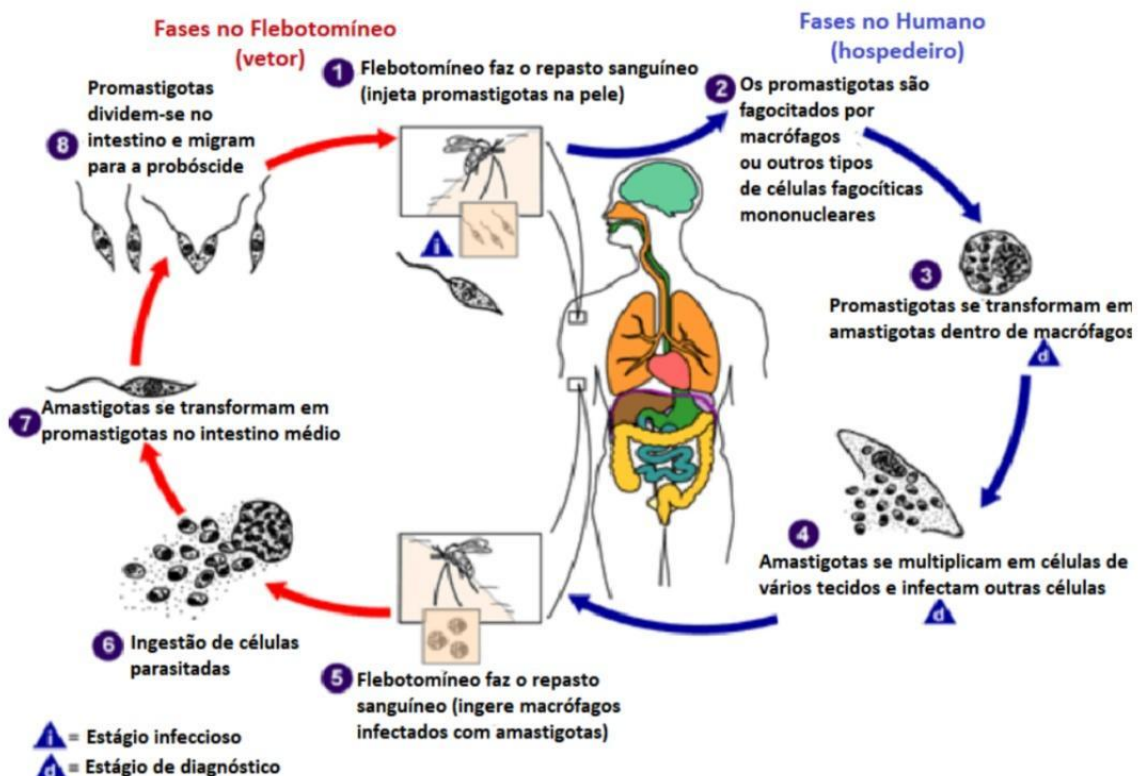
Figura 2 - Mosquito fêmea adulta do gênero *Lutzomyia*.



Fonte: adaptado de [1].

O ciclo da leishmaniose inicia-se quando a fêmea do flebotomíneo realiza o repasto sanguíneo em um hospedeiro humano ou animal infectado, ingerindo formas amastigotas presentes em células fagocíticas [7,8]. No vetor, esses parasitas transformam-se em promastigotas, multiplicam-se no trato digestivo (intestino médio) e, ao longo de um período de incubação que varia entre 4 e 25 dias, diferenciam-se em promastigotas metacíclicas, estágio infeccioso que migra para a probóscide [5]. Assim, durante um novo repasto sanguíneo, o flebotomíneo inocula as formas promastigotas no hospedeiro vertebrado, onde estas são fagocitadas por macrófagos e outras células mononucleares [8]. No interior das células fagocíticas, transformam-se em amastigotas, estágio tecidual do parasita, e passam a se multiplicar nos fagolisossomos [5,8]. A infecção dissemina-se para diferentes tecidos em decorrência da multiplicação e liberação contínua dessas formas, e sua evolução clínica é modulada por fatores relacionados ao parasita, ao hospedeiro e ao ambiente, os quais determinam se o quadro se tornará sintomático e se a leishmaniose se manifestará nas formas cutânea ou visceral [8]. O ciclo se perpetua quando outra fêmea de flebotomíneo alimenta-se de um hospedeiro infectado, ingerindo células parasitadas e reiniciando todo o processo [8] (Figura 3).

Figura 3 - Ciclo de transmissão completo de *Leishmania* spp. em humanos.



Fonte: adaptado de [8].

Portanto, a transmissão da leishmaniose ocorre predominante de maneira indireta, mediada por vetores, não havendo transmissão direta entre pessoas. Contudo, em raras ocasiões, a transmissão pode ocorrer por meio do uso de drogas intravenosas, de acidentes com agulhas contaminadas, de transfusão sanguínea ou por via transplacentária [1].

Esse processo pode assumir caráter zoonótico, envolvendo animais que atuam como reservatórios, entre eles os gambás (*Didelphis marsupialis* e *D. albiventris*), o tatu *Dasypus novemcinctus*, o tamanduá *Tamandua tetradactyla*, a preguiça *Choloepus didactylus*, os roedores caviomorfos dos gêneros *Proechimys* e *Thrichomys*, os cães domésticos, os canídeos silvestres (*Cerdocyon thous* e *Speothos venaticus*) e as diferentes espécies de morcegos, todos capazes de manter a infecção e transmitir o parasita aos flebotomíneos, os quais, por sua vez, podem infectar os humanos [1].

A transmissão também pode apresentar caráter antroponótico, quando ocorre exclusivamente entre humanos por intermédio dos flebotomíneos, sendo sua dinâmica modulada por diversos fatores, incluindo a espécie do parasita, a composição das populações de flebotomíneos, as condições ambientais do local de ocorrência, além da exposição prévia e atual das populações e de seus padrões comportamentais [9]. Dessa forma, a compreensão do ciclo de transmissão e dos fatores que o influenciam é fundamental para a implementação de medidas preventivas eficazes, permitindo o desenvolvimento de estratégias ajustadas às características locais e às especificidades do contexto epidemiológico e ambiental.

1.2 Epidemiologia e impacto social das leishmanioses

A leishmaniose é uma doença tropical negligenciada (DTN), conforme designação da Organização Mundial da Saúde, com ampla distribuição global, presente em mais de 90 países, abrangendo populações do Novo Mundo, como a América Latina, e do Velho Mundo, incluindo áreas da África, Ásia e Sul da Europa, com maior prevalência no Sudeste Asiático, África Oriental e Brasil [5,10]. No panorama mundial, estima-se que mais de 1 bilhão de pessoas vivam em regiões endêmicas, estando em risco de infecção, resultando anualmente em mais de 1 milhão de casos de leishmaniose cutânea (LC) e cerca de 30 mil novos casos de LV [7]. Ademais, 12 e 15 milhões de indivíduos estão infectados, com registros de até 2 milhões de novos casos por ano e cerca de 70 mil mortes associadas à doença [11].

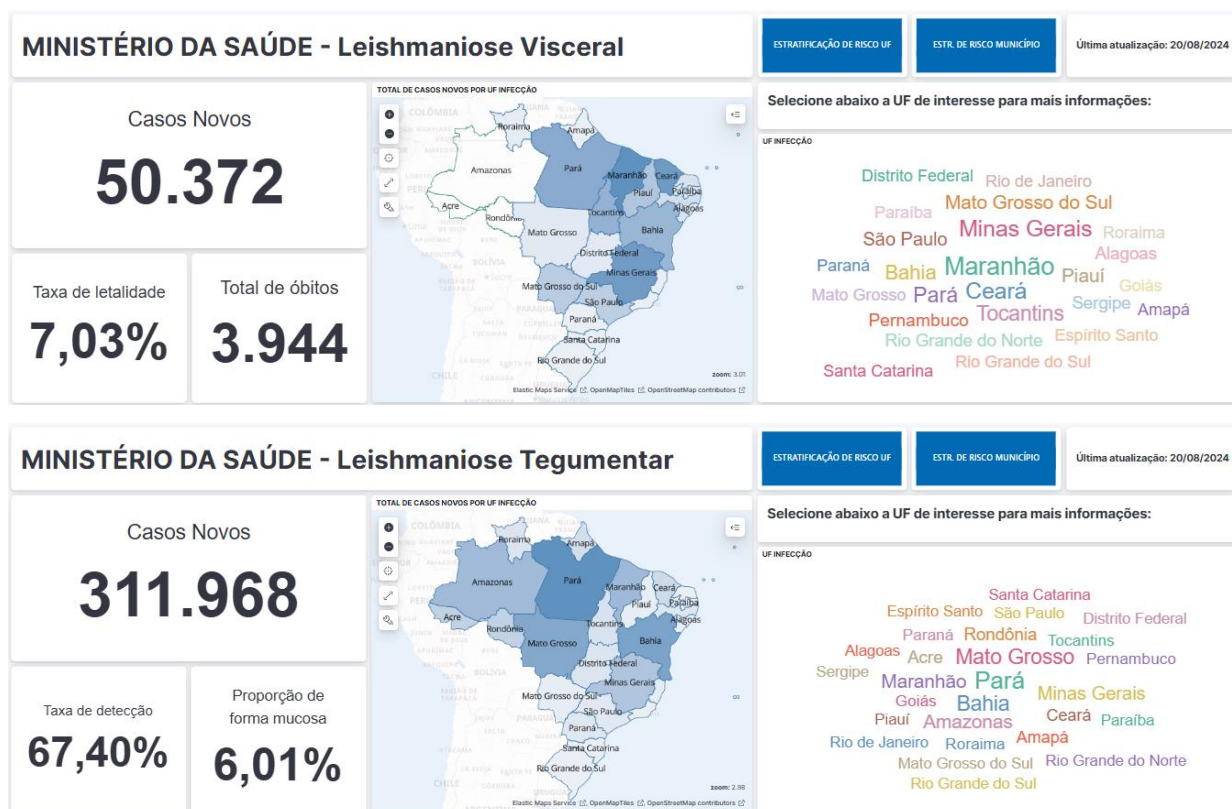
No informe epidemiológico da Região das Américas publicado pela Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS) em 2025, observa-se a magnitude da leishmaniose como problema de saúde pública no continente. Entre 2001 e 2024, um total de 18 países notificou 1.208.461 casos de leishmaniose mucosa (LM) e LC, representando uma média anual de 50.353 casos [12]. No mesmo período, 13 países registraram um total de 74.440 novos casos de LV, com média anual de 3.102 casos e taxa de letalidade de 9,6%, demonstrando um aumento em relação a 2023, quando a taxa foi de 7,8%, o que corresponde a um crescimento de 23% [12]. Nesse contexto, o Brasil apresentou o maior número de casos de LV e LC nas Américas, sendo responsável, em 2024, por 92% das notificações de LV, com 1.245 casos, além de 9.810 registros de LC, reforçando a importância do monitoramento contínuo, da vigilância epidemiológica e do desenvolvimento de estratégias eficazes de prevenção e controle [12].

À vista desse cenário, a OPAS estruturou o Plano de Ação para Fortalecer a Vigilância e o Controle das Leishmanioses nas Américas 2023–2030, um documento que articula ações de vigilância, assistência e controle alinhadas às evidências disponíveis, abrangendo análises de custo e custo-efetividade das intervenções, avaliação da organização dos serviços de saúde e aprimoramento do acesso e uso dos dados epidemiológicos, direcionando-se ao diagnóstico precoce, ao tratamento oportuno e ao acompanhamento adequado, à vigilância integrada, às medidas de prevenção e controle de casos humanos, vetores e reservatórios, bem como a iniciativas de educação e comunicação em saúde, compondo uma resposta abrangente e adaptada às particularidades epidemiológicas da região [13].

Diante da discussão sobre o fortalecimento das estratégias previstas no Plano de Ação, o Ministério da Saúde lançou uma plataforma de monitoramento que disponibiliza painéis interativos com dados atualizados sobre a situação epidemiológica, reunindo informações essenciais como número de casos, óbitos, taxa de letalidade por estado e distribuição por sexo, faixa etária e raça/cor referentes à LV e à LT [14,15], sendo esta a denominação para o agrupamento das formas cutânea e mucocutânea, que, quando considerada no contexto das Américas, é designada como leishmaniose tegumentar americana (LTA) [3]. No Brasil, a LV registrou 50.372 novos casos, com maior ocorrência em homens, predominância entre indivíduos pardos e concentração na faixa etária de 20 a 59 anos, além de apresentar elevada incidência em crianças de 1 a 4 anos, e

especialmente na Região Nordeste [14]. A LT, por sua vez, contabilizou 311.968 novos casos, igualmente predominante em homens e na população parda, afetando principalmente adultos de 20 a 39 anos, com redução moderada, mas ainda significativa, entre 40 e 59 anos, sendo mais frequente na Região Norte [15] (Figura 4).

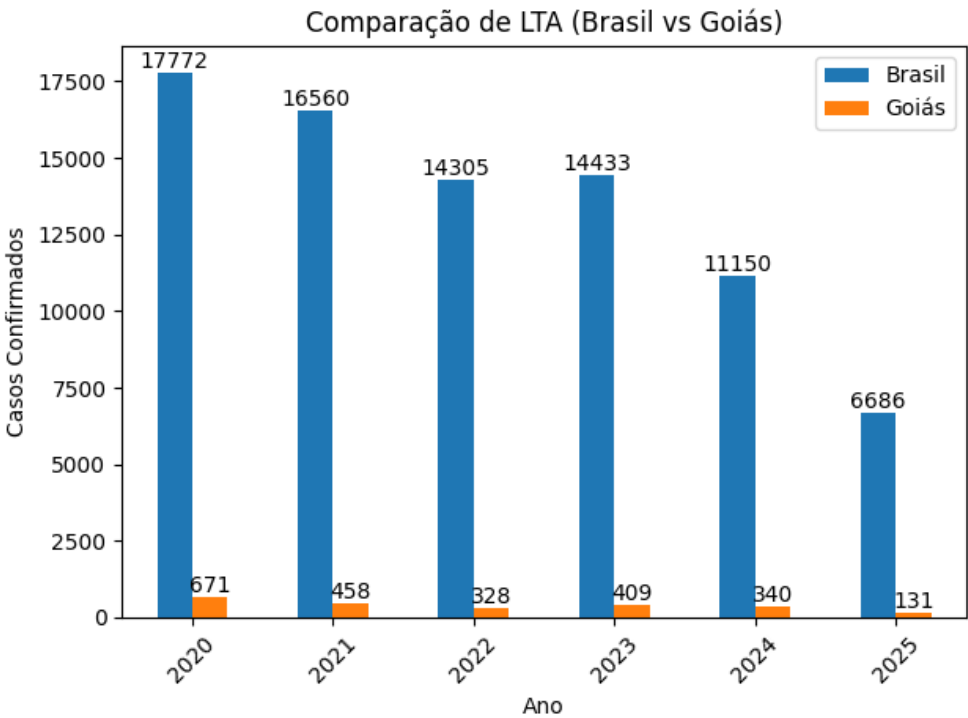
Figura 4 - Painéis de controle de novos casos de LV e LT no Brasil.



Fonte: adaptado de [14, 15].

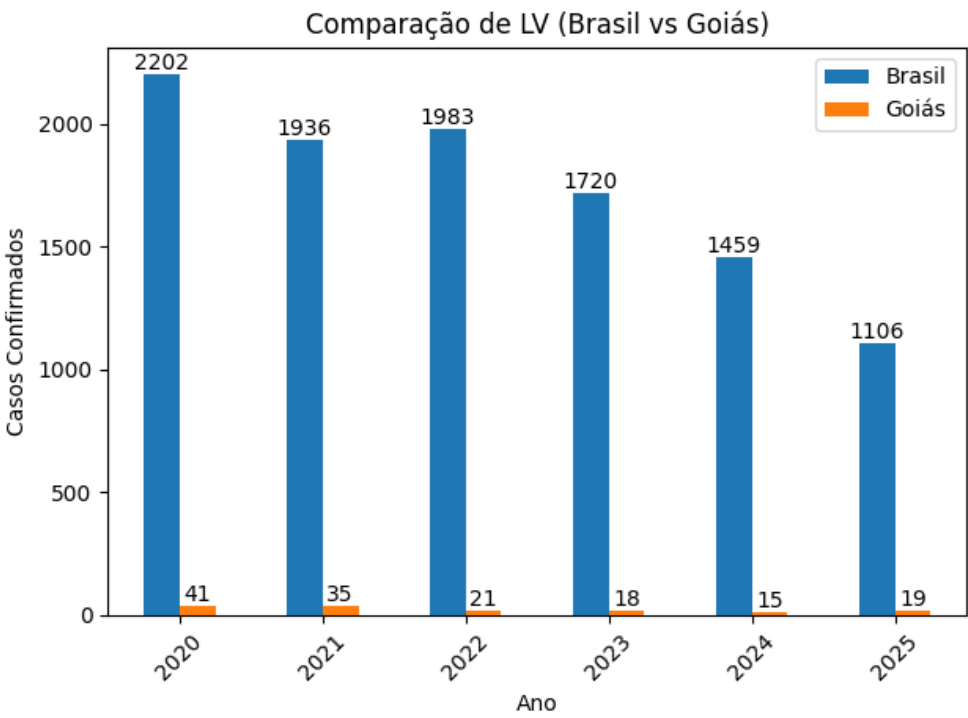
A análise dos casos de leishmaniose no Brasil entre 2020 e 2025, realizada por meio do programa TabWin a partir da base de dados nacional do Sistema de Informação de Agravos de Notificação, permitiu examinar de forma sistemática a distribuição temporal das notificações da LT e da LV. Os resultados evidenciaram tendência de redução nacional para ambas as formas da doença ao longo do período analisado, com declínio de aproximadamente 62% para a LT e 50% para a LV. Em Goiás, observou-se comportamento semelhante, ainda que com oscilações pontuais, com reduções de cerca de 80% e 54% no mesmo intervalo [16,17]. Esses padrões podem refletir o impacto das ações de vigilância epidemiológica, do aprimoramento do diagnóstico e da intensificação das estratégias de controle implementadas nos últimos anos (Gráfico 1 e Gráfico 2).

Gráfico 1 - Distribuição de casos conformados de LTA no Brasil e no estado de Goiás nos últimos cinco anos.



Fonte: autoria própria com dados de [16].

Gráfico 2 - Distribuição de casos conformados de LV no Brasil e no estado de Goiás nos últimos cinco anos.



Fonte: autoria própria com dados de [17].

Por conseguinte, a utilização integrada dessas plataformas fortalece as ações de vigilância, prevenção e controle das leishmanioses, ampliando a acurácia das análises epidemiológicas e fornecendo suporte fundamental para a tomada de decisão e a formulação de estratégias baseadas em evidências, o que contribui para uma resposta mais eficaz frente à distribuição e à dinâmica da doença no país.

Além do seu impacto epidemiológico, a leishmaniose está associada ao estigma social e à discriminação, afetando sobretudo comunidades vulneráveis que vivem, em sua maioria, em áreas rurais e contextos urbanos precários de países de baixa renda, cujas condições econômicas e sociais são agravadas pelas limitações impostas pela doença. Fatores como baixa escolaridade, moradia inadequada, ocupação desordenada dos espaços urbanos e dificuldade de acesso a serviços de saúde ampliam o risco de exposição ao vetor, dificultam o diagnóstico precoce e o tratamento contínuo, e contribuem para a cronicidade da leishmaniose. Outrossim, a baixa visibilidade política, a escassez de água potável e de saneamento, o reduzido investimento em pesquisa e as barreiras ao acesso a medicamentos reforçam a manutenção da transmissão e perpetuam ciclos persistentes de pobreza e desigualdade social [18-20].

Desse modo, o enfrentamento da leishmaniose requer estratégias intersetoriais e territorializadas, que integrem vigilância epidemiológica, controle vetorial, educação em saúde e políticas de assistência, além do engajamento da sociedade civil, gestores e profissionais de saúde, promovendo uma abordagem multidisciplinar, baseada em evidências e voltada para a equidade, o controle epidemiológico e a superação do ciclo de negligência em que a doença se encontra [21].

1.3 Manifestações clínicas das leishmanioses

Clinicamente, a leishmaniose apresenta-se em três formas principais: cutânea, mucocutânea e visceral [6,7]. Essas manifestações diferem quanto à gravidade, localização das lesões e repercussões clínicas, podendo evoluir desde quadros autolimitados até condições potencialmente fatais. A LC é a forma mais comum, a leishmaniose mucocutânea (LMC) é a mais incapacitante e a LV é a mais grave [7]. A evolução da doença é influenciada pelo tempo de infecção, pela espécie de *Leishmania* envolvida e pela resposta imunológica do hospedeiro, sendo o prognóstico diretamente relacionado à rapidez e à eficácia do tratamento instituído.

A LC é a manifestação caracterizada pelo surgimento de lesões ulcerativas na pele que deixam cicatrizes permanentes, geralmente localizadas em áreas expostas do corpo, como rosto, braços e pernas [7]. A evolução clínica típica inicia-se com uma mácula no local da picada do flebotomíneo, que progride para pápula e, posteriormente, para um nódulo indolor, o qual aumenta progressivamente de tamanho e se ulcera [22]. As úlceras resultantes apresentam fundo limpo e granular, coloração rósea, bordas regulares e elevadas, podendo ocorrer isoladamente ou em múltiplos focos, por vezes ultrapassando dezenas de lesões e ocasionando importante comprometimento estético e funcional [22] (Figura 5).

Figura 5 - Manifestações clínicas da LC: formas localizadas (A: úlcera no tornozelo; B: lesão com borda endurecida na face) e formas difusas (C: lesões nodulares disseminadas; D: placas infiltradas nas mãos com deformidade e exulceração secundária).



Fonte: adaptado de [1].

No Brasil, a LC está predominantemente associada às espécies *L. (Leishmania) amazonensis*, *L. (Viannia) guyanensis* e *L. (Viannia) braziliensis* [2]. Considerando a espécie abordada neste estudo, *L. amazonensis* é uma espécie causadora de LC localizada, mas também está associada a formas mais graves da doença, como a LC difusa anérgica, uma manifestação rara e extremamente severa caracterizada pelo desenvolvimento de múltiplas lesões cutâneas não ulcerativas, de distribuição progressiva e difusa, nas quais os parasitas se multiplicam de maneira descontrolada devido à ausência de uma resposta imune celular eficaz [11,23].

A LMC é caracterizada por lesões capazes de destruir parcial ou totalmente as membranas mucosas do trato respiratório superior, afetando estruturas como as narinas, a cavidade oral, a faringe e a laringe [2,6]. O comprometimento mucoso pode manifestar-se simultaneamente às lesões cutâneas ou surgir de forma tardia após a cicatrização destas [2], sendo a mucosa do septo nasal o sítio mais frequentemente acometido, onde a progressão do processo inflamatório pode levar à perfuração e, em casos mais graves, à destruição da estrutura [22] (Figura 6).

Figura 6 - Manifestações clínicas da LMC: (A) Perfuração do septo nasal. (B) Lesões mucosas extensas com ulcerações, crostas sero-hemáticas, edema e infiltração granulomatosa envolvendo palato e lábio superior.



Fonte: adaptado de [1].

A depender do local acometido, os pacientes podem apresentar secreções nasais, epistaxe, rouquidão (disfonia), disfagia e dor [22]. A doença está associada principalmente às espécies *L. (Viannia) braziliensis*, *L. (Viannia) amazonensis*, *L. (Viannia) guyanensis* e *L. (Viannia) panamensis*, configurando uma complicação grave e debilitante que demanda intervenção terapêutica imediata para prevenir sequelas permanentes e preservar a qualidade de vida do paciente [2].

A LV, também denominada calazar, é uma forma sistêmica que afeta órgãos como baço, fígado, sistema hematogênico e sistema linfático, sendo causada principalmente por espécies como *L. donovani* e *L. infantum* no Velho Mundo e por *L. chagasi*, igual à *L. infantum*, mas encontrada no Novo Mundo [2]. Clinicamente, caracteriza-se por episódios irregulares de febre, perda de peso, anemia e hepatoesplenomegalia [24] (Figura 7).

Figura 7 - Manifestações clínicas da LV: (A) Hepatoesplenomegalia. (B) Equimose extensa no antebraço.



Fonte: adaptado de [1].

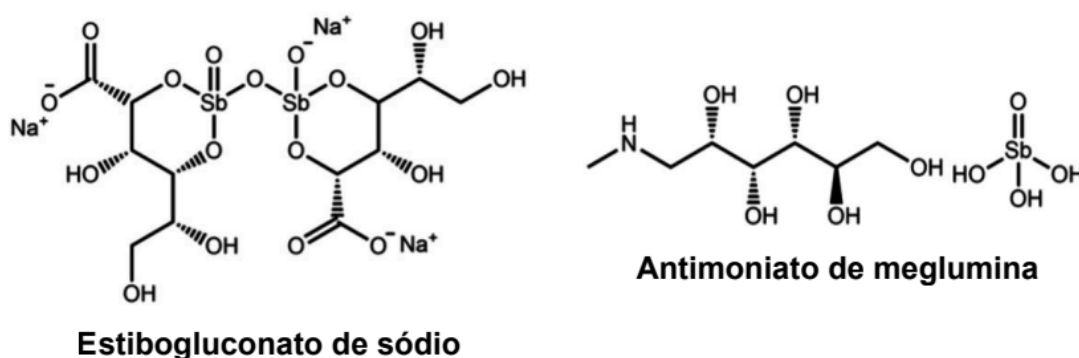
A doença incide com maior frequência em grupos populacionais vulneráveis, como crianças menores de cinco anos, adultos acima de 50 anos e indivíduos imunocomprometidos, especialmente aqueles coinfectados pelo HIV [24]. Quando não tratada de forma oportuna, a LV apresenta elevada letalidade, podendo evoluir para óbito em mais de 90% dos casos [24], o que evidencia sua importância epidemiológica e reforça a necessidade de diagnóstico precoce aliado a intervenções terapêuticas eficazes.

1.4 Tratamento farmacológico e mecanismo de ação

O tratamento medicamentoso para leishmaniose tem sido historicamente baseado no uso de antimoniais pentavalentes (Sb^{5+}), considerado como terapia de primeira linha [25]. No entanto, a necessidade de utilizar altas concentrações de Sb^{5+} para superar a resistência parasitária, somada aos efeitos tóxicos associados (cardiotoxicidade, cirrose, toxicidade pancreática [26]), motivou a busca por fármacos de segunda linha, os quais incluem anfotericina B (AmB) (e suas formulações lipídicas), miltefosina (MIL), paromomicina (PMM) e pentamidina [25]; porém, os poucos fármacos disponíveis apresentam baixa solubilidade em meios fisiológicos, tornando a administração, geralmente intravenosa (IV) ou intramuscular (IM), bastante dolorosa e, devido aos diversos efeitos adversos decorrentes desse processo e de seus usos, favorece o abandono do tratamento, contribuindo para o aumento da resistência aos medicamentos [25].

Os Sb^{5+} representam, há décadas, a primeira opção terapêutica para todas as formas de leishmaniose, destacando-se o estibogluconato de sódio e o antimoniato de meglumina (Figura 8), sendo este último o medicamento de escolha no Brasil [26,27].

Figura 8 – Representação esquemática das estruturas químicas dos Sb^{5+} .



Fonte: adaptado de [25].

Apesar de seus mecanismos de ação não serem totalmente compreendidos, sugere-se que esses pró-fármacos atuem após sua conversão à forma ativa, o antimônio trivalente (Sb^{3+}), processo que ocorre tanto nos macrófagos hospedeiros quanto no próprio parasita [27]. O Sb^{3+} interfere na oxidação de ácidos graxos e na fosforilação de adenosina difosfato, culminando na depleção energética e na apoptose do protozoário, além de comprometer os sistemas antioxidantes do

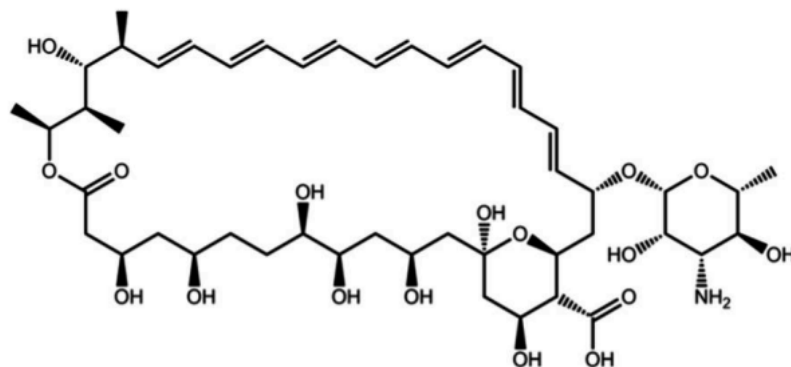
parasita, como a glutathione e a tripanotione redutase, o que leva ao acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROs) e ao consequente estresse oxidativo [25,27]. Outro mecanismo proposto envolve a inibição das topoisomerasas, enzimas essenciais para a manutenção da topologia do DNA e para processos como replicação, transcrição e condensação da cromatina, afetando de forma crítica o ciclo celular e a viabilidade do parasito; ademais, já se sugeriu a inibição da produção de ATP e GTP por meio da supressão do ciclo do ácido cítrico e da glicólise [27].

Os Sb^{5+} podem ser administrados pelas vias IM, IV ou intralesional (IL) e, entre os principais eventos adversos associados ao seu uso, destacam-se cardiotoxicidade, pancreatite, nefrotoxicidade e hepatotoxicidade, além da ocorrência de resistência medicamentosa [26]. Embora apresentem vantagens, incluindo ampla disponibilidade em áreas endêmicas e baixo custo, as limitações relacionadas ao seu emprego motivam a busca por terapias alternativas, como a termoterapia, que tem sido cada vez mais utilizada na América do Sul e está associada à redução do tamanho das lesões e à obtenção de cura clínica [2,26].

De acordo com as Diretrizes para o Tratamento da Leishmaniose na Região das Américas [28], recomenda-se a administração IL desses compostos em pacientes com LC localizada causada por *L. braziliensis* e *L. amazonensis*, além de casos mais complexos, como LC difusa e disseminada, sendo seu uso, isolado ou associado à pentoxifilina oral, também indicado para o tratamento da LMC. Esses fármacos podem ser utilizados no tratamento da LV em crianças e adultos não imunocomprometidos e, em casos de LC associada a doença renal, hepática ou cardíaca, recomenda-se cautela e monitoramento clínico frequente [28]. Por fim, é importante destacar que os Sb^{5+} são contraindicados para gestantes e para indivíduos com alterações no eletrocardiograma [28].

A AmB é um antibiótico de amplo espectro, pertencente à classe dos polienos, tradicionalmente empregado no manejo de infecções fúngicas e de algumas doenças protozoárias, como a leishmaniose, na qual é utilizada como tratamento de segunda linha e constitui a principal alternativa terapêutica aos Sb^{5+} [25] (Figura 9).

Figura 9 - Representação esquemática da estrutura química da AmB.



Anfotericina B

Fonte: adaptado de [25].

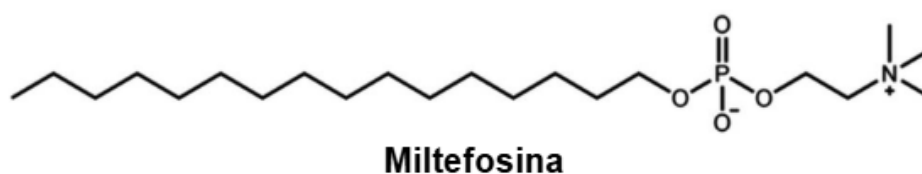
O mecanismo de ação da AmB envolve a interação de seu grupo cromóforo e o ergosterol presente na membrana plasmática do protozoário, causando desorganização da membrana, formação de poros aquosos, alteração da permeabilidade, extravasamento de constituintes celulares, desequilíbrio iônico e consequente morte do parasito [25,27]. Contudo, como células de mamíferos possuem colesterol, ao qual a AmB também é capaz de se ligar por ser estruturalmente semelhante ao ergosterol, a terapia está associada a diversos efeitos adversos, incluindo nefrotoxicidade, hipocalcemia, febre, cefaleia e anemia, o que limita seu uso em determinados pacientes [25].

É importante ressaltar que a resistência primária ao fármaco é considerada um evento incomum, porém o tratamento com AmB ainda apresenta outras limitações: a instabilidade térmica da formulação convencional e a necessidade de hospitalização para sua administração, uma vez que sua estrutura anfifílica confere baixa solubilidade em água e exige formulações específicas para uso IV [26,27]. Felizmente, os efeitos adversos da AmB convencional foram em grande parte contornados com o desenvolvimento de formulações lipossomais, altamente eficazes na cura de todas as formas de infecções por *Leishmania*. Nessa formulação, a AmB é incorporada a uma bicamada lipossomal, reduzindo significativamente a nefrotoxicidade relacionada à infusão, embora ainda possam ocorrer reações leves, nefrotoxicidade transitória e trombocitopenia; no entanto, sua principal desvantagem é o alto custo, que limita o acesso por populações de baixa renda, justamente as mais afetadas por essa doença [27].

O uso da AmB lipossomal para o tratamento de todas as formas de leishmaniose é recomendado para pacientes adultos imunocompetentes, pediátricos, gestantes, indivíduos com HIV e outras causas de imunossupressão, além de pessoas com comorbidades que contraindiquem outras terapias, como alterações no eletrocardiograma ou doença renal, hepática ou cardíaca; quando a formulação lipossomal não está disponível, recomenda-se o uso de AmB em complexo lipídico ou desoxicolato para pacientes imunocomprometidos com LV, e, ao empregar a AmB lipossomal e outras formulações em pacientes com LV imunocompetentes, é importante monitorar rigorosamente a função renal [28].

A hexadecilfosfocolina (MIL) é um alquilfosfolípídeo sintético originalmente desenvolvido como agente antineoplásico e atualmente representa o único fármaco oral disponível para o tratamento da leishmaniose [25] (Figura 10).

Figura 10 - Representação esquemática da estrutura química da MIL.



Fonte: adaptado de [25].

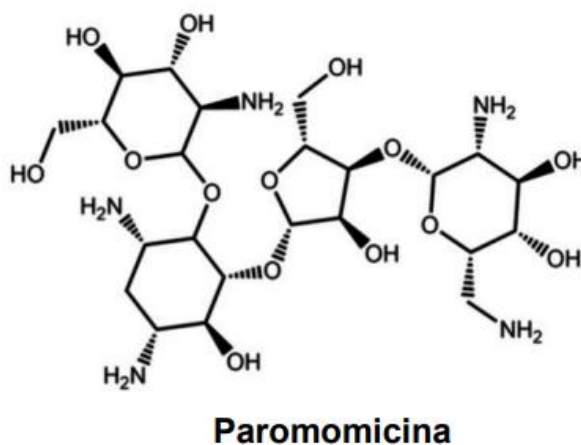
A ação da MIL sobre o protozoário pode acontecer por meio de múltiplos mecanismos: o fármaco inibe a biossíntese de fosfatidilcolina, um componente essencial da membrana celular, promovendo desestabilização estrutural e induzindo apoptose [25]; apresenta a capacidade de despolarizar o potencial da membrana mitocondrial e inibir a citocromo-c oxidase, eventos intimamente relacionados à morte celular programada [27]; provoca disrupção da homeostase intracelular de Ca^{2+} , afetando organelas e canais envolvidos na regulação deste íon [29]; e induz a expressão de óxido nítrico sintase 2, aumentando a produção de óxido nítrico, o qual contribui para a eliminação do parasita no interior dos macrófagos [30].

Apesar da facilidade de administração, da curta duração terapêutica e do amplo espectro de atividade contra diversas espécies de *Leishmania*, seu uso requer cautela devido a efeitos colaterais relacionados às suas propriedades surfactantes zwitteriônicas; estes incluem distúrbios gastrointestinais, hepatotoxicidade, nefrotoxicidade e teratogenicidade, além de apresentar alto custo e relatos de resistência medicamentosa [25,26]. O uso de MIL é recomendado pelas

diretrizes para pacientes adultos com diagnóstico de LC causada por *L. panamensis*, *L. mexicana*, *L. guyanensis* e *L. braziliensis*, bem como para pacientes pediátricos infectados por *L. panamensis*, *L. guyanensis* e *L. braziliensis*, sendo contraindicado para gestantes [28]. Além disso, recomenda-se sua utilização em pacientes imunocompetentes, não grávidas e não lactantes diagnosticados com LV [2,28].

A PMM, um antibiótico aminoglicosídeo com propriedades antibacterianas e antileishmania (Figura 11), possui um mecanismo de ação ainda não completamente elucidado; porém, estudos informam que sua atividade envolve a inibição da síntese de proteínas do protozoário por meio da ligação à subunidade ribossômica 30S, resultando no acúmulo de complexos ribossômicos anormais 30S-50S e, finalmente, causando a morte celular [25,27]. Outros estudos associam a inibição da síntese de proteínas e a alteração no potencial da membrana mitocondrial com a morte parasitária [27].

Figura 11 - Representação esquemática da estrutura química da PMM.

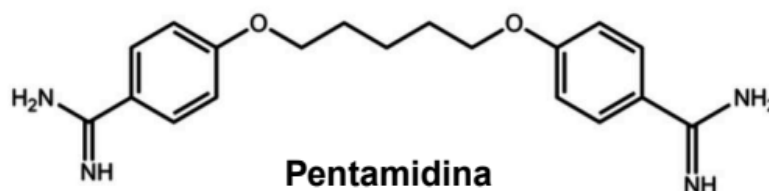


Fonte: adaptado de [25].

A administração pode ocorrer por via tópica ou IM, sendo que a necessidade de uso parenteral representa uma dificuldade para a sua adoção em diversos cenários clínicos [26,27]. Entre os efeitos adversos reportados, destacam-se ototoxicidade, nefrotoxicidade e hepatotoxicidade [26,27]. O medicamento apresenta como vantagens sua boa eficácia e o custo relativamente baixo, embora sua eficácia varie conforme a região geográfica e exista potencial para desenvolvimento de resistência [26]. A principal indicação de uso da PMM é em pacientes adultos e pediátricos com LC causada por *L. panamensis*, *L. braziliensis* e *L. mexicana* [28].

A pentamidina é uma diamidina aromática, derivado sintético da amidina, utilizada como tratamento de segunda linha contra a leishmaniose [25,27] (Figura 12).

Figura 12 - Representação esquemática da estrutura química da pentamidina.



Fonte: adaptado de [25].

Seu mecanismo de ação ainda não é claro, mas sabe-se que a mitocôndria constitui um importante alvo, sugerindo que o composto penetre nos parasitos por meio de transportadores de arginina e poliaminas e iniba a topoisomerase mitocondrial II [27]. Há também evidência de que a pentamidina interfere na síntese de DNA e altera a morfologia do cinetoplasto [25]. O fármaco possui limitações relacionadas à sua baixa eficácia e à necessidade de administração por via IM ou IV, além de casos de resistência descritos em clones de *L. donovani* e *L. amazonensis*, associados à redução da captação e ao aumento do efluxo da pentamidina [27]. Seus efeitos adversos incluem cardiotoxicidade, nefrotoxicidade, hipotensão, alterações eletrocardiográficas e a indução irreversível de diabetes mellitus insulínica [25–27]. O uso de isetionato de pentamidina é recomendado principalmente para pacientes com leishmaniose cutânea localizada causada por *L. guyanensis* e para casos de LC difusa, estando o fármaco contraindicado para gestantes e para indivíduos com alterações eletrocardiográficas [28].

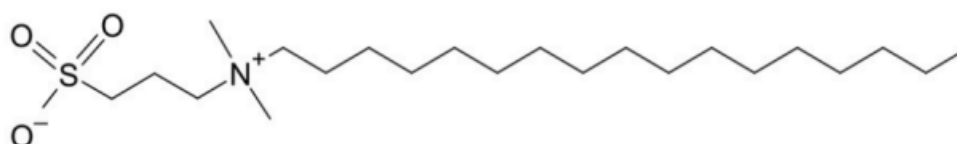
Diante desse cenário, com o objetivo de prevenir o desenvolvimento de resistência medicamentosa, aumentar a adesão terapêutica, reduzir o tempo de tratamento e, conseqüentemente, diminuir os custos envolvidos, foi desenvolvida a quimioterapia combinada, na qual diversas associações têm sido utilizadas, incluindo AmB lipossomal com MIL, AmB lipossomal com PMM, MIL com PMM e Sb^{5+} com PMM [26]. Ademais, outras alternativas vêm sendo investigadas para o manejo das leishmanioses, incluindo terapias locais (terapia fotodinâmica, crioterapia e termoterapia), bem como estratégias imunoterapêuticas (interferon- γ , vacinas experimentais e imunomoduladores proteicos) e abordagens

imunocimioterápicas, que buscam modular a resposta imune do hospedeiro e reduzir a carga parasitária [26]. Mais recentemente, nanopartículas metálicas, de óxidos e materiais à base de carbono têm emergido como sistemas promissores de liberação controlada de fármacos, capazes de aumentar a solubilidade dos compostos, gerar EROs e responder a estímulos internos ou externos, otimizando a ação terapêutica sobre o parasita [25]. Por fim, vale destacar que a escolha terapêutica deve ser realizada com cautela em grupos especiais, incluindo idosos, mulheres em idade fértil, gestantes, lactantes e indivíduos imunocomprometidos, pois as evidências disponíveis para esses perfis ainda são limitadas, tornando essencial a individualização da conduta terapêutica, aliada ao monitoramento rigoroso [28].

1.5 Surfactante zwitteriônico HPS

O N-hexadecil-N,N-dimetil-3-amônio-1-propanossulfonato (HPS) é um surfactante zwitteriônico caracterizado por possuir uma região hidrofóbica e uma região polar com grupos iônicos (catiônicos e aniônicos) [41]. Do ponto de vista estrutural, o HPS apresenta uma longa cadeia apolar com 16 átomos de carbono (N-hexadecil), que atua como “cauda” hidrofóbica, e uma extremidade polar, ou “cabeça”, composta por um grupo amônio ($-N^+(CH_3)_2$), que possui carga positiva, o qual está conectado ao grupo sulfonato ($-SO_3^-$), responsável pela carga negativa, por meio de uma cadeia de três átomos de carbono que integra esses dois grupos funcionais [41] (Figura 13). As cargas opostas coexistem no mesmo composto e tendem a se anular mutuamente, o que confere ao HPS uma neutralidade elétrica global, embora isso possa variar conforme o pH do meio em que se encontra [41]. Todas essas características estruturais permitem que o HPS interaja tanto com ambientes aquosos quanto com regiões lipofílicas, aspecto fundamental para sua atuação como tensoativo. Assim, surfactantes zwitteriônicos são amplamente empregados em formulações cosméticas, farmacêuticas e em produtos de limpeza, devido ao seu caráter anfifílico e à capacidade de ajustar seu perfil de carga conforme o ambiente.

Figura 13 - Representação esquemática da estrutura química do HPS.



Fonte: adaptado de [43].

O HPS apresenta capacidade de interagir com membranas celulares, as quais possuem regiões carregadas e hidrofóbicas, estabelecendo interações eletrostáticas e hidrofóbicas com as proteínas e os lipídeos que as compõem [42]. Em um estudo anterior [42], as atividades leishmanicidas e citotóxicas do HPS foram comparadas às da MIL, que também é um composto zwitteriônico, e, surpreendentemente, não houve diferenças significativas nos ensaios *in vitro*, até mesmo na atividade contra a forma amastigota que fica internalizada no macrófago. Nesse mesmo estudo, análises por espectroscopia de RPE utilizando marcadores de spin revelaram que ambos os compostos aumentam a dinâmica molecular das proteínas de membrana, indicando que suas interações ocorrem predominantemente na interface lipídeo-proteína da membrana plasmática.

Em trabalho subsequente [43], verificou-se que o mecanismo de ação primário do HPS envolve uma etapa inicial de fluidização da membrana, promovendo vazamento iônico responsável por desestabilizar os potenciais das membranas plasmática e mitocondrial. Isso leva ao aumento da produção de EROs, as quais induzem a oxidação das membranas e desencadeiam uma cascata de efeitos deletérios à célula parasitária, resultando em sua morte.

1.6 Espectroscopia de RPE

A técnica de Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE) foi descrita pela primeira vez por Evgeniy K. Zavoisky em 1944, em Kazan, na então União Soviética [31]. Em 1954, Pake, Townsend e Commoner apresentaram os primeiros resultados de RPE em sistemas biológicos, demonstrando a relação entre atividade metabólica e concentração de radicais livres [32]. A partir desses avanços, a RPE consolidou-se como uma ferramenta importante para a investigação de sistemas biológicos, permitindo caracterizar parâmetros como mobilidade molecular e polaridade do meio [33].

A espectroscopia de RPE é empregada na investigação de elementos químicos que apresentam elétrons desemparelhados, como radicais livres e íons metálicos com propriedades paramagnéticas [34]. Seu princípio baseia-se na interação entre a radiação de micro-ondas e o momento magnético dos elétrons desemparelhados quando submetidos a um campo magnético externo [35]. O elétron apresenta um momento angular próprio, denominado spin eletrônico, decorrente de sua natureza quântica. Na presença de um campo magnético externo,

o spin pode orientar-se de forma paralela ou antiparalela ao campo, promovendo o desdobramento em dois níveis de energia (os níveis Zeeman) correspondentes ao estado de menor energia (spin down, $-1/2$) e ao de maior energia (spin up, $+1/2$) [36,37]. Quando a energia da radiação de micro-ondas coincide com a diferença entre esses estados, ocorre a transição eletrônica com absorção de energia, gerando o espectro característico de RPE [35]. Esse espectro fornece informações relevantes sobre o ambiente químico e magnético do elétron desemparelhado, possibilitando a análise de interações hiperfinas, aspectos da estrutura eletrônica e dinâmica molecular do sistema estudado. O equipamento de RPE é composto por um eletroímã responsável pela geração do campo magnético, uma cavidade ressonante onde a amostra é posicionada, um sistema de detecção de micro-ondas, um controlador de temperatura e uma unidade de processamento de dados, que em conjunto permitem a aquisição e análise dos espectros (Figura 14).

Figura 14 - Espectrômetro de RPE do Laboratório de Biofísica, localizado no Instituto de Física da UFG.



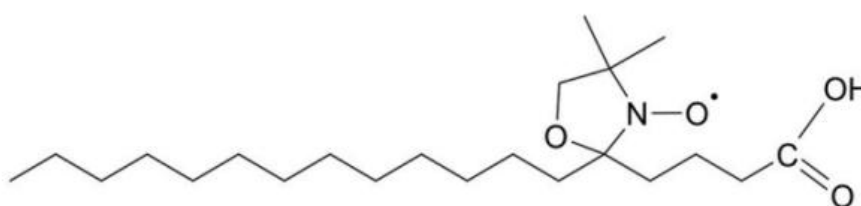
Fonte: autoria própria.

A aplicação biológica da espectroscopia de RPE envolve o estudo de espécies naturalmente paramagnéticas, como metaloproteínas, metaloporfirinas e radicais livres formados como intermediários em reações bioquímicas. Entretanto, muitos sistemas de interesse biológico não apresentam centros paramagnéticos, tornando necessária a utilização de sondas paramagnéticas específicas, conhecidas como marcadores de spin [38]. Os marcadores de spin utilizados em estudos

biológicos são, em sua maioria, derivados do nitróxido, um radical livre que possui um elétron desemparelhado no grupo nitroxila ($\text{NO}\cdot$). Estes marcadores de spin podem ser incorporados em membranas biológicas ou em grupos sulfidrilas de proteínas ou ácidos nucleicos, para possibilitar sua análise estrutural e dinâmica [39]. O radical nitróxido pode sofrer redução, perdendo seu sinal de RPE, ao interagir com o ácido ascórbico, Fe^{2+} ou grupos tióis livres, mas na ausência destes agentes redutores geralmente tem estabilidade suficiente para a realização dos experimentos de RPE. A configuração eletrônica do nitróxido possibilita a interação do elétron desemparelhado com o núcleo do nitrogênio, gerando um acoplamento hiperfino dependente da orientação da ligação N-O em relação ao campo magnético. Quando a molécula está em movimento rotacional, essa interação hiperfina flutua, gerando um espectro de RPE característico que depende do estado de mobilidade do composto [38].

Um dos marcadores mais empregados é o ácido 5-doxil-esteárico (5-DSA), que contém o radical nitróxido no quinto carbono da cadeia alifática (Figura 15) e, ao ser incorporado às membranas celulares, permite avaliar a mobilidade e a fluidez da bicamada lipídica.

Figura 15 - Representação esquemática da estrutura química do marcador de spin 5-DSA.



Fonte: adaptado de [43].

Nessa abordagem, a variação do parâmetro de desdobramento hiperfino ($2A_{||}$) reflete alterações na mobilidade molecular, sendo que valores mais elevados correspondem a menor fluidez da membrana [40]. Em sistemas nos quais o marcador se distribui por regiões com diferentes graus de mobilidade, os espectros resultantes apresentam múltiplas componentes, cuja análise quantitativa dos distintos microambientes requer simulação computacional [40].

1.7 Justificativa

Diante das limitações que permeiam o tratamento da leishmaniose, marcado por um conjunto restrito de fármacos, elevada toxicidade, alto custo e crescente resistência dos parasitos aos medicamentos atualmente disponíveis, além do fato de que o desenvolvimento de um novo fármaco pode demandar de 10 a 20 anos até sua aprovação por agências regulatórias [25], torna-se evidente a necessidade de identificar e desenvolver novos compostos com potencial atividade leishmanicida. Nesse contexto, estratégias baseadas no planejamento racional de compostos inspirados em estruturas já conhecidas, como butil-hidroxitolueno (BHT) e HPS, ganham especial relevância, uma vez que permitem não apenas a identificação de candidatos potencialmente mais eficazes, seguros e com redução de efeitos adversos, mas também o aprofundamento do entendimento acerca dos mecanismos de ação relacionados à interação com componentes celulares do protozoário *Leishmania*.

Portanto, este trabalho tem como objetivo sintetizar compostos análogos ao HPS contendo modificações na cadeia lipofílica, de modo a modular as interações na interface lipídeo–proteína da membrana, e avaliar como essas alterações influenciam a atividade leishmanicida.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivos Gerais

Planejar, sintetizar e avaliar a atividade farmacológica de novos candidatos a protótipos de fármacos anti-leishmaniose, LQFM 424 (5) e LQFM 425 (3), estruturalmente derivados do HPS e do BHT.

2.2 Objetivos Específicos

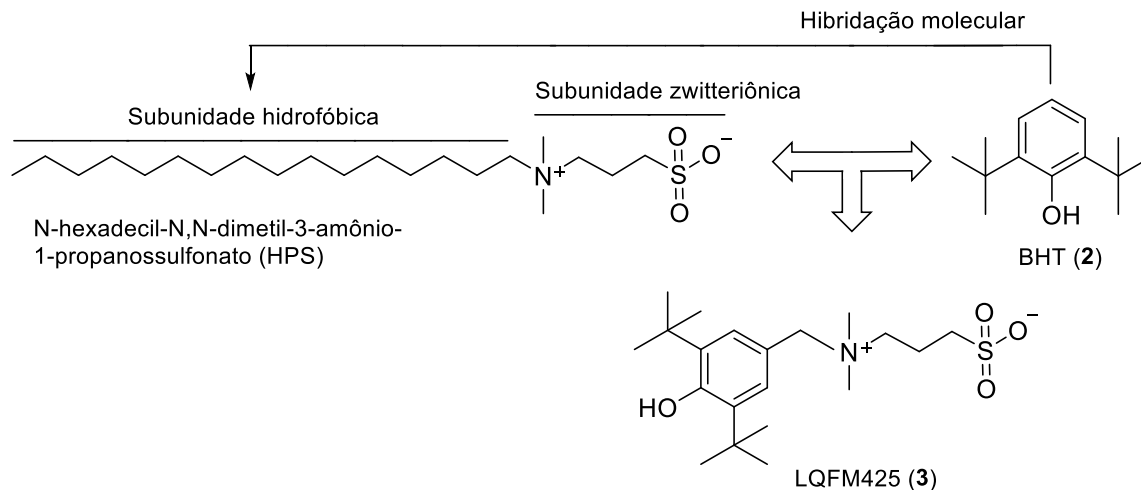
- Sintetizar os compostos propostos LQFM 424 (5) e LQFM 425 (3);
- Realizar a elucidação estrutural dos compostos LQFM 424 (5) e LQFM 425 (3) por meio de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C , HSQM e HMBC;
- Avaliar os efeitos antiproliferativos dos compostos em promastigotas de *L. amazonensis* por meio do ensaio colorimétrico com brometo de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazólio (MTT), com determinação da concentração inibitória média (IC_{50}) para comparação com o fármaco de referência (MIL);
- Avaliar, por espectroscopia de RPE de marcador spin 5-DSA, os efeitos de rigidez das membranas plasmáticas de promastigotas de *L. amazonensis* induzidos pelos compostos;
- Investigar os mecanismos de ação dos compostos, explorando a hipótese de que o estresse oxidativo desencadeado possa promover rigidez na membrana plasmática do parasita.

3 METODOLOGIA

3.1 Planejamento estrutural do composto LQFM 425 (3)

O planejamento estrutural do composto LQFM 425 (3) foi desenvolvido no contexto de uma linha de pesquisa voltada à identificação de novos candidatos a protótipos de fármacos com potencial atividade anti-leishmaniose. A concepção do novo análogo do HPS (3) teve como base a estratégia de hibridação molecular, integrando características estruturais de dois compostos previamente conhecidos: o HPS (1), um detergente zwitteriônico com propriedades anfifílicas, e o BHT (2), um antioxidante amplamente utilizado como padrão ouro. A subunidade hidrofóbica originalmente presente no HPS (1) foi substituída pela unidade 2,6-di-*tert*-butilfenol, derivada do BHT (2), a qual, além de manter a natureza hidrofóbica, confere também potencial atividade antioxidante ao composto híbrido (Esquema 1). Com essa modificação estrutural, buscou-se obter um novo análogo que mantivesse a funcionalidade zwitteriônica característica do HPS, agregando ainda propriedades antioxidantes.

Esquema 1 - Planejamento estrutural do composto LQFM 425 (3).



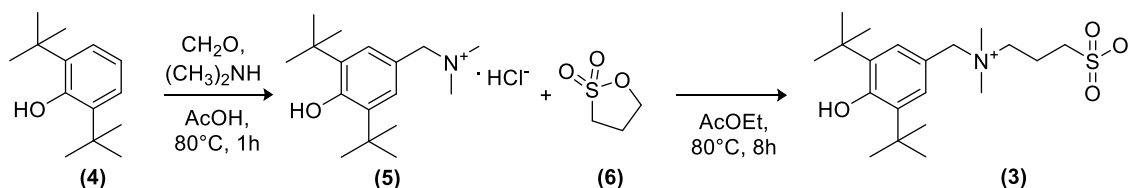
Fonte: autoria própria.

3.2 Rota sintética

O início da rota sintética se dá por meio da reação de Mannich, utilizando 2,6-di-*tert*-butilfenol (4), dimetilamina, formaldeído em meio de ácido acético, à temperatura de 80°C, por uma hora [44], levando à formação do composto LQFM 424 (5) em forma de sal. Na próxima etapa, sob condições de reação de substituição nucleofílica bimolecular (SN₂), o composto LQFM 424 (5) reage com 1,3-

propanossultona (**6**), em meio de acetato de etila, à temperatura de 80°C, por 8 horas [45], levando à formação do composto LQFM 425 (**3**) (Esquema 2).

Esquema 2 - Rota sintética para a formação do composto LQFM 425 (**3**).



3.2.1 Síntese do 2,6-di-*tert*-butil-4-((dimetilamina)metil)fenol - LQFM 424 (**5**)

A síntese do composto LQFM 424 (**5**) foi conduzida em balão de fundo redondo de 50 mL mantido em banho de gelo, no qual foram adicionados formaldeído (180 µL, 2 mmol), dimetilamina (358 µL, 2 mmol), ácido acético (400 µL, 2 mmol) e 2,6-di-*tert*-butilfenol (**4**) (206 mg, 1 mmol). Após a adição, o banho de gelo foi retirado e a mistura reacional foi aquecida a 80°C por uma hora [44]. Em seguida, o meio reacional foi transferido para água e submetido à extração com acetato de etila. Na sequência, o produto obtido foi submetido a purificação através da formação do cloridrato correspondente. O ácido clorídrico gasoso, gerado pela reação entre ácido sulfúrico e ácido clorídrico em um sistema de Kipp, foi borbulhado na solução do composto LQFM 424 (**5**) em meio de diclorometano, promovendo a conversão da sua forma de base livre para a forma de sal (cloridrato). O precipitado formado foi lavado com hexano à quente sob agitação.

3.2.2 Síntese do 3-((3,5-di-*tert*-butil-4-hidroxibenzil)dimetilamônio)propano-1-sulfonato - LQFM 425 (**3**)

A síntese do composto LQFM 425 (**3**) foi conduzida em balão de fundo redondo de 50 mL, utilizando o composto LQFM 424 (**5**) (263 mg, 1 mmol), juntamente com 5 mL de acetato de etila e 1,3-propanossultona (**6**) (88 µL, 1 mmol). A reação foi conduzida sob agitação a 80°C por um período de oito horas [45]. Após o término da reação, o precipitado formado foi lavado com hexano à quente sob agitação.

3.3 Elucidação estrutural

A caracterização estrutural dos compostos sintetizados foi realizada por espectroscopia de RMN. Para as análises, o composto LQFM 424 (**5**) foi solubilizado em clorofórmio deuterado (CDCl_3), enquanto o composto LQFM 425 (**3**) foi solubilizado em metanol deuterado (CD_3OD). Posteriormente, as amostras foram encaminhadas ao Instituto de Química (IQ) da Universidade Federal de Goiás (UFG), onde foram obtidos os espectros de RMN ^1H e ^{13}C , além das técnicas bidimensionais HSQC e HMBC. Os espectros foram analisados com base nos deslocamentos químicos, integrações, multiplicidades e constantes de acoplamento, bem como nas correlações obtidas por HSQC e HMBC, permitindo a atribuição dos sinais e a confirmação estrutural dos compostos.

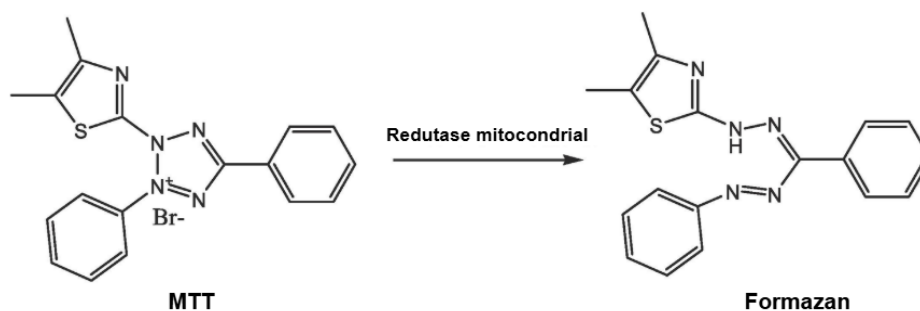
3.4 Cultivo de parasitas

A cepa utilizada neste estudo foi a *L. (L.) amazonensis* (MHOM/BR/75/Josefa), armazenada no Leishbank (Banco de leishmanias do Laboratório de Imunobiologia das Leishmanioses, no Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP) da UFG. O cultivo das formas promastigotas foi realizado em placa de 24 poços, mantidos à temperatura de 26°C , contendo, por poço, 2 mL de meio RPMI 1640 suplementado com 20 % de soro fetal bovino, 2 mM de L-glutamina, 100 U/mL de penicilina e 100 $\mu\text{g/mL}$ de estreptomicina.

3.5 Viabilidade celular de promastigotas *L. amazonensis* pelo ensaio MTT

A viabilidade celular das formas promastigotas de *L. amazonensis* foi avaliada por meio do ensaio colorimétrico MTT, após o tratamento com os compostos LQFM 424 (**5**) e LQFM 425 (**3**). O MTT é um sal de monotetrazólio de coloração amarela, constituído por um anel tetrazólico quaternário carregado positivamente, composto por quatro átomos de nitrogênio e substituído por três anéis aromáticos, sendo dois grupos fenil e um anel tiazolil [46]. Em células metabolicamente ativas, o MTT é reduzido com consequente ruptura do anel tetrazólico central e formação de um produto insolúvel em água, o formazan, de coloração violeta-azulada [46] (Figura 16).

Figura 16 - Representação química da conversão de MTT em formazan.



Fonte: adaptado de [47].

Em razão de sua carga positiva e natureza lipofílica, o MTT é capaz de atravessar a membrana plasmática e a membrana interna mitocondrial de células viáveis, sendo reduzido a formazan principalmente pela ação de enzimas desidrogenases mitocondriais [46].

Para a realização dos ensaios, os compostos LQFM 424 (**5**) e LQFM 425 (**3**) foram solubilizados em dimetilsulfóxido (DMSO) e preparados em solução estoque a 50 mM. A partir dessas soluções, em uma placa de 96 poços, ambos os compostos foram diluídos em meio Grace para obter a concentração máxima de 200 μ M no primeiro poço. Em seguida, foram realizadas diluições seriadas de razão 1:2, alcançando-se as concentrações finais de 200, 100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,125 e 0 μ M. Como controle positivo de inibição da viabilidade, utilizou-se MIL, inicialmente solubilizada em DMSO e posteriormente diluída em meio Grace para obtenção das concentrações finais nas concentrações de 80, 40, 20, 10, 5, 2,5, 1,25 e 0 μ M. Como controle negativo de viabilidade, utilizaram-se poços contendo exclusivamente parasitas mantidos apenas no meio de cultura.

Após a adição dos tratamentos, a placa foi incubada em estufa a 26 °C por um período de 24 horas. Decorrido esse tempo, adicionaram-se 20 μ L de MTT (5 mg/mL em água mili-Q), a cada poço, e a placa foi incubada por quatro horas para permitir a formação dos cristais de formazan. Por fim, adicionaram-se 100 μ L de DMSO para solubilização dos cristais, procedendo-se à leitura visual da coloração resultante.

A intensidade da coloração roxa formada foi avaliada visualmente, sendo diretamente proporcional à atividade metabólica e, conseqüentemente, à viabilidade dos parasitas sobreviventes. Os resultados foram utilizados para estimar a porcentagem de viabilidade em relação ao controle negativo e para posterior determinação do IC₅₀ dos compostos testados.

3.6 Preparação e marcação das amostras para a espectroscopia de RPE de promastigotas *L. amazonensis*

Os parasitas foram empregados nos ensaios experimentais ao atingirem a fase estacionária de crescimento, correspondente ao 6º dia de cultivo *in vitro*. As formas promastigotas de *L. amazonensis* foram cultivadas em meio RPMI-1640 e distribuídas em placas de 24 poços, com volume final de 2 mL por poço e concentração celular ajustada para $1,5 \times 10^7$ parasitas/mL. As culturas foram tratadas com MIL a 20 μ M, utilizada como controle positivo, e com os compostos LQFM 424 (**5**) e LQFM 425 (**3**), ambos a 50 μ M, sendo então incubadas por 24 horas a 26 °C. Após o período de incubação, as amostras foram transferidas para tubos tipo Eppendorf e submetidas à centrifugação a $14.000 \times g$ por 10 minutos, com o objetivo de sedimentar os parasitas e possíveis fragmentos de membrana. Em seguida, os sobrenadantes foram cuidadosamente descartados, e os parasitas lavados com 1 mL de tampão PBS. Após a remoção do tampão de lavagem, os parasitas foram ressuspensos em 40 μ L do mesmo tampão. Para a marcação das membranas parasitárias, adicionaram-se 0,7 μ L de solução do marcador 5-DSA (a 5 mg/mL em etanol) a cada amostra, contendo cerca de 3×10^7 parasitas/mL.

Para as análises de espectroscopia de RPE, as suspensões marcadas foram transferidas para tubos capilares de vidro com diâmetro interno de 1 mm, os quais foram selados com o auxílio de uma chama. Os tubos capilares foram centrifugados a $15.000 \times g$ por 5 minutos, concentrando os parasitas em um pequeno pellet de cerca de 2 mm. Por fim, os capilares foram levados ao espectrômetro Bruker EMXplus (Bruker BioSpin GmbH, Rheinstetten, Alemanha) e posicionados no centro da cavidade de ressonância para a aquisição dos espectros de RPE. As medidas foram realizadas com potência de micro-ondas de 20 mW, frequência de 9,45 GHz, modulação do campo magnético de 1,0 G, faixa de varredura de 100 G, tempo total de aquisição de 168 s e temperatura controlada a 25 ± 1 °C.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análise de propriedades físico-químicas e farmacocinéticas

De acordo com os critérios propostos por Lipinski, compostos com maior probabilidade de apresentar boa biodisponibilidade por via oral possuem características específicas, como: peso molecular inferior a 500 g/mol, valor de LogP não superior a 5, até 10 aceptores de elétrons e no máximo 5 doadores de hidrogênio [48]. Posteriormente, Veber ampliou essa análise ao incluir outros dois fatores que também influenciam a absorção oral: a área de superfície polar, que deve estar abaixo de 140 Å², e o número de ligações rotacionáveis, que deve ser inferior a 10 [49]. A consideração conjunta desses parâmetros durante a etapa de planejamento auxilia na seleção de compostos com maior probabilidade de apresentarem propriedades farmacocinéticas adequadas, evitando o investimento em sínteses de compostos com perfil indesejável [49, 50]. Observando esses critérios, verifica-se que os compostos LQFM 424 (**5**) e LQFM 425 (**3**) atendem integralmente às regras estabelecidas por Lipinski e Veber (Tabela 1).

Tabela 1 - Parâmetros *in silico* das propriedades físico-químicas.

Composto	PM	cLogP _{o/w}	nOH	nNHOH	nRob	PSA
Regra	500	≤5	<10	<5	<10	<140 Å
LQFM 424 (5)	285,85	3,99	1	1	3	23,47
LQFM 425 (3)	371,54	4,31	5	1	7	77,43

Legenda: Resultados de parâmetros teóricos calculados para LQFM 424 (**5**) e LQFM 425 (**3**); P.M. – peso molecular; cLogP_{o/w} – coeficiente de partição octanol-água; nOH – número de aceitor de ligação de hidrogênio; nNHOH- número de doadores de ligação de hidrogênio; nRob – número de ligações rotacionáveis; PSA – área de superfície polar.

4.2 Síntese e aspectos gerais dos compostos sintetizados

A síntese foi conduzida com sucesso, permitindo a obtenção do composto LQFM 425 (**3**) por meio de uma reação de Mannich, seguida de reação do tipo SN2, a partir do intermediário LQFM 424 (**5**).

Para a síntese do LQFM 424 (**5**), formaldeído, dimetilamina e ácido acético foram adicionados a um balão de fundo redondo contendo 2,6-di-*tert*-butilfenol (**4**), inicialmente mantido em banho de gelo. Após a homogeneização, o sistema foi aquecido a 80°C por 1 hora. Concluída a reação, o meio foi vertido em água e submetido à extração com acetato de etila. O produto obtido foi então convertido em seu respectivo cloridrato por meio da introdução de ácido clorídrico gasoso em

solução de diclorometano, promovendo a formação do sal. O sólido precipitado foi isolado e lavado com hexano quente sob agitação.

Na etapa seguinte, o LQFM 424 (**5**) reagiu com 1,3-propanossultona, em acetato de etila, sob aquecimento a 80°C e agitação constante por 8 horas. Ao final da reação, observou-se a formação de um precipitado, que foi isolado e lavado com hexano quente, resultando na obtenção do composto LQFM 425 (**3**).

O composto LQFM 425 (**3**) é considerado inédito de acordo com a plataforma SciFinder®. Os aspectos gerais dos compostos sintetizados foram determinados, incluindo a avaliação do aspecto físico, do ponto de fusão, do fator de retenção em cromatografia em camada delgada, considerando seus respectivos deslocamentos, bem como dos rendimentos parciais e globais do processo sintético (Tabela 2).

Tabela 2 - Aspectos gerais dos compostos LQFM 424 (**5**) e LQFM 425 (**3**).

Compostos	Aspecto físico	P.F. (°C)	Ds ¹	Da ²	R _F ³	Rendimento Parcial (%)	Rendimento Global ⁴ (%)
LQFM 424 (5)	Branco amarelado	218-222	1,6	0,5	0,31	89	80
LQFM 425 (3)	Branco amarelado	148-153	1,7	0,6	0,35	90	

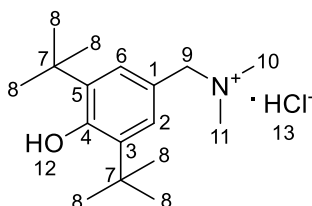
Legenda: P.F - Ponto de Fusão; R_F - Fator de Retenção; ¹Ds - Deslocamento do solvente; ²Da - Deslocamento da amostra. ³Fase móvel - diclorometano:metanol (90:10); ⁴O rendimento global considera todas as etapas sintéticas.

4.3 Elucidação estrutural

4.3.1 Análise de RMN de ¹H para o composto LQFM 424 (**5**)

A análise dos deslocamentos químicos (δ) do composto LQFM 424 (**5**) no espectro de RMN de ¹H foi fundamentada com base na literatura [51-53] (Tabela 3).

Tabela 3 - Deslocamentos químicos de RMN de ^1H do composto LQFM 424 (**5**) em CDCl_3 .



LQFM 424 (5)	
Posição	δ ^1H (multiplicidade; J Hz)
1	-
2 e 6	7,32 (s)
3 e 5	-
4	-
7	-
8	1,45 (s)
9	4,05 (d; J= 4,4 Hz)
10 e 11	2,71 (d; J= 4,4 Hz)
12	5,46 (s)
13	12,58 (s)

Legenda: s – singleto; d – dupleto.

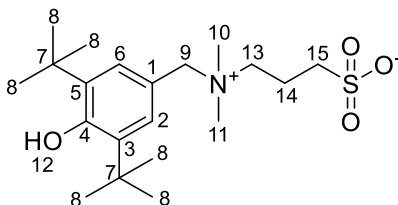
Constatou-se que os hidrogênios das posições 2 e 6 exibem um único sinal em 7,32 ppm, assim como os hidrogênios das posições 10 e 11, que ressoam a 2,71 ppm. Esse comportamento é esperado, uma vez que esses hidrogênios são quimicamente equivalentes, ou seja, ocupam ambientes idênticos dentro do composto. A simetria dessas posições resulta na absorção em um único valor de deslocamento químico para cada par de hidrogênios [51].

O sinal correspondente aos hidrogênios ligados ao anel aromático nas posições 2 e 6 foi observado em 7,32 ppm, valor compatível com os registros de 7,00 ppm [51], 7,15 ppm [52] e 7,09 ppm [53]. Já os hidrogênios dos grupos metila na posição 8 apresentaram um valor de deslocamento químico de 1,45 ppm, alinhado ao intervalo esperado de 0,7 a 1,3 ppm [51], além de coincidir com os valores de 1,44 ppm [52] e 1,42 ppm [53]. Os hidrogênios na posição 9, por sua vez, exibiram um sinal em 4,05 ppm, próximo aos valores de 3,53 ppm [52] e 3,49 ppm [53]. Quanto aos hidrogênios metílicos das posições 10 e 11, ligados ao grupo amina, foi observado deslocamento em 2,71 ppm, valor coerente com os registros de aproximadamente 3 ppm [51]. Por fim, o hidrogênio da hidroxila na posição 12 mostrou um sinal em 5,46 ppm, dentro da faixa de 4–7 ppm [51] e em consonância com os valores encontrados de 5,20 ppm [52] e 5,14 ppm [53] (Anexo A).

4.3.2 Análise de RMN de ^1H e de ^{13}C para o composto LQFM 425 (**3**)

Os deslocamentos químicos obtidos nos espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C referentes ao composto LQFM 425 (**3**) foram baseados no estudo anterior [54] (Tabela 4).

Tabela 4 - Deslocamentos químicos de RMN de ^1H e ^{13}C do composto LQFM 425 (**3**) em CD_3OD .



LQFM 425 (3)		
Posição	δ ^1H (multiplicidade; J Hz)	δ ^{13}C
1	-	121,8
2 e 6	7,26 (s)	128,8
3 e 5	-	140,3
4	-	157,2
7	-	35,7
8	1,44 (s)	30,7
9	4,19 (s)	63,1
10 e 11	2,81 (s)	42,7
12	-	-
13	3,70 (t; J= 6,6 Hz)	44,6
14	2,21 (tt; J= 7,3 Hz; 6,6 Hz)	29,8
15	2,93 (t; J= 7,3 Hz)	50,0

Legenda: s – singleto; t – tripleto; tt – triplo tripleto.

Observou-se que os hidrogênios nas posições 2, 6, 8, 9, 10 e 11 apresentaram deslocamentos químicos semelhantes aos do composto LQFM 424 (**5**), embora não idênticos, devido às diferenças estruturais entre os compostos. O composto LQFM 425 (**3**) apresenta, adicionalmente, uma subunidade contendo três carbonos e um grupo sulfonato. Os hidrogênios dos grupos metileno nas posições 13, 14 e 15 exibiram sinais em 3,70 ppm, 2,21 ppm e 2,93 ppm, respectivamente, valores próximos aos descritos na literatura em 3,28 ppm, 3,68 ppm e 2,86 ppm [54] (Anexo B).

A atribuição dos sinais correspondentes à subunidade propílica do composto LQFM 425 (**3**) também foi fundamentada na análise da multiplicidade (acoplamento spin-spin), nas constantes de acoplamento (J) e nos efeitos de blindagem e desblindagem eletrônica. O fenômeno de separação spin-spin, explicado

empiricamente pela regra $n + 1$, diz respeito à forma como cada tipo de próton “sente” o número de prótons equivalentes (n) no(s) átomo(s) de carbono vizinho(s), o que resulta na divisão do pico de ressonância em $n + 1$ componentes [51]. Já a distância entre os picos de um multiplete é denominada J , uma medida expressa em hertz (Hz) que indica quão intensamente um núcleo é afetado pelos estados de spin de seus vizinhos [51]. Com base nesses princípios, os hidrogênios da posição 13 (δ 3,70 ppm) apresentam-se como um tripleto (t) com $J = 6,6$ Hz, indicando o acoplamento com os dois prótons adjacentes da posição 14. O elevado deslocamento nesta posição decorre da proximidade ao nitrogênio quaternário (N^+); por ser um átomo eletronegativo, ele atrai a densidade eletrônica e promove a desblindagem do núcleo, expondo-o com maior intensidade ao campo magnético externo e exigindo maior energia para a ressonância. De forma análoga, os hidrogênios da posição 15 (δ 2,93 ppm) exibem-se como um t com $J = 7,3$ Hz devido ao acoplamento com a posição 14. O deslocamento intermediário é justificado pela presença do grupo sulfonato ($-SO_3^-$) que exerce um efeito desblindante menos acentuado que o do nitrogênio carregado positivamente. Por fim, os hidrogênios da posição 14 (δ 2,21 ppm) surgem como triplo tripleto com constantes de acoplamento de 7,3 Hz e 6,6 Hz, refletindo a interação simultânea com os prótons das posições 13 e 15. Por estarem localizados no centro da cadeia, mais afastados dos grupos substituintes, esses hidrogênios permanecem mais blindados pela nuvem eletrônica, apresentando, conseqüentemente, o menor valor de deslocamento químico.

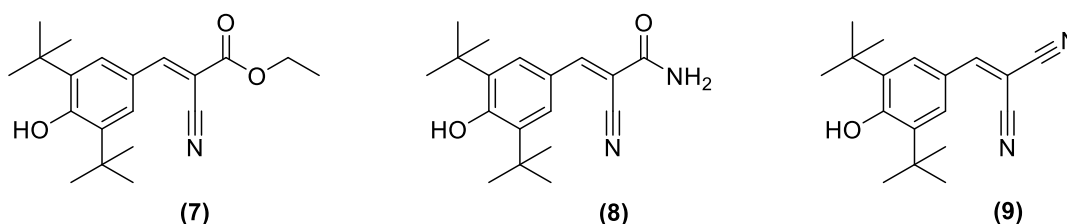
Os valores de deslocamento químico de ^{13}C obtidos neste estudo estão em conformidade com a literatura [54]. Os sinais observados em 121,8 ppm (C1), 128,8 ppm (C2 e C6), 140,3 ppm (C3 e C5) e 157,2 ppm (C4) correspondem às regiões esperadas para carbonos aromáticos, enquanto os deslocamentos em 35,7 ppm (C7), 30,7 ppm (C8), 63,1 ppm (C9), 42,7 ppm (C10 e C11), 44,6 ppm (C13), 29,8 ppm (C14) e 50,0 ppm (C15) são compatíveis com carbonos alifáticos substituídos (Anexo C). As correlações observadas nos espectros bidimensionais HSQC e HMBC reforçam a atribuição dos sinais, destacando-se as concordâncias em C2/C6 (128,6 ppm), C9 (63,2 ppm), C10/C11 (42,7 ppm), C13 (44,3 ppm), C14 (29,9 ppm) e C15 (49,9 ppm) no HSQC (Anexo D), bem como C1 (122,0 ppm), C3/C5 (140,3 ppm), C4 (156,9 ppm), C7 (36,0 ppm) e C8 (30,5 ppm) no HMBC (Anexo E).

4.4 Atividade antiproliferativa com promastigotas *L. amazonensis*

Estudos prévios [42,43] avaliaram a atividade antiproliferativa do surfactante zwitteriônico HPS frente a *L. amazonensis*, empregando o ensaio colorimétrico MTT para a determinação da viabilidade celular na forma promastigota. Os resultados evidenciaram que o HPS apresentou valor de IC_{50} de $10,6 \pm 2,3 \mu M$, enquanto a MIL, utilizada como fármaco de referência, exibiu IC_{50} de $10,3 \pm 2,0 \mu M$, indicando efeito antiproliferativo *in vitro* estatisticamente semelhante entre o surfactante e o fármaco padrão.

Em outra pesquisa [55], três compostos com atividade antileishmania foram racionalmente planejados mediante a incorporação de um grupo BHT e de um esqueleto aceptor de Michael à base de acrilato. A atividade antiproliferativa desses derivados acrílicos frente a promastigotas de *L. amazonensis* foi igualmente avaliada pelo ensaio MTT, resultando em valores de IC_{50} de $10,1 \pm 2,3 \mu M$, $32,9 \pm 2,6 \mu M$ e $7,4 \pm 2,0 \mu M$ para os compostos (7), (8) e (9) do referido estudo, respectivamente (Figura 17). Esses valores mostraram-se comparáveis aos obtidos para a MIL ($IC_{50} = 9,7 \pm 1,4 \mu M$), evidenciando que um dos derivados apresentou atividade antiproliferativa superior à do fármaco de referência, o que reforça o potencial dessa classe de compostos como candidatos promissores para o desenvolvimento de novos agentes antileishmania.

Figura 17 - Estruturas químicas dos derivados acrílicos.



Fonte: autoria própria.

Perante os resultados promissores previamente descritos para compostos contendo o grupo BHT, bem como para surfactantes zwitteriônicos, a exemplo do HPS, considerou-se estratégica a síntese dos compostos LQFM 424 (5) e LQFM 425 (3), que reúnem essas características estruturais, com o objetivo de avaliar seu potencial antiproliferativo frente às formas promastigotas de *L. amazonensis*. Assim, os compostos LQFM 424 (5) e LQFM 425 (3) sintetizados neste estudo foram submetidos ao ensaio colorimétrico MTT para a determinação da atividade antiproliferativa e dos valores de IC_{50} . Os resultados demonstraram que, embora

ambos os compostos apresentem atividade antiproliferativa, seus valores de IC_{50} foram superiores aos observados para a MIL, utilizada como fármaco de referência (Tabela 5), indicando menor potência *in vitro* nas condições experimentais avaliadas.

Tabela 5 - Avaliação da atividade antiproliferativa dos compostos LQFM 424 (5) e LQFM 425 (3) frente às formas promastigotas de *L. amazonensis* em comparação com a MIL.

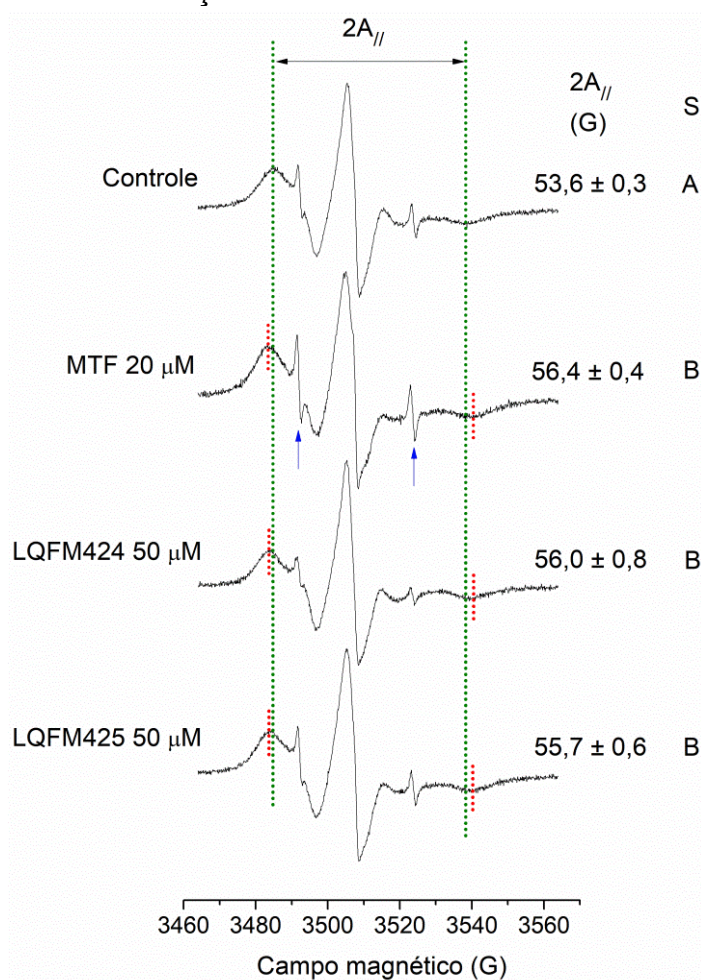
Amostras	Promastigotas de <i>L. amazonensis</i> - $IC_{50} \pm DP$ (μM)
LQFM 424 (5)	$40,0 \pm 8,7$
LQFM 425 (3)	$70,0 \pm 32,8$
MIL	$11,7 \pm 2,9$

Legenda: IC_{50} - concentração necessária para inibir 50% dos parasitas. DP - desvio padrão. MIL - miltefosina (utilizada como controle positivo).

4.5 Efeitos na dinâmica molecular da membrana avaliados por RPE

A análise comparativa entre as amostras não tratadas (controle) e aquelas expostas aos compostos MIL, LQFM 424 (5) e LQFM 425 (3) foi realizada a partir dos espectros de RPE obtidos do marcador paramagnético 5-DSA incorporado às membranas plasmáticas de promastigotas de *L. amazonensis* (Figura 18).

Figura 18 - Espectros representativos de RPE do marcador de spin 5-DSA inserido na membrana plasmática de promastigotas de *L. amazonensis* após 24 h de cultivo a partir do 6º dia para amostras sem tratamento (controle) e tratadas com MIL, LQFM 424 (5) e LQFM 425 (3) nas concentrações indicadas. Os valores médios $\pm$ D.P. do parâmetro de RPE $2A_{//}$ (desdobramento hiperfino externo) estão indicados para cada espectro. Este parâmetro de mobilidade, que é medido diretamente no espectro RPE, é dado pela separação de valores de campo magnético entre o primeiro pico de ressonância e o último pico invertido. As linhas verticais verdes indicam a separação entre os picos para o espectro de controle, enquanto as linhas vermelhas mostram que os espectros das amostras tratadas têm maior separação. Significância estatística (S): As médias indicadas por mesma letra maiúscula não são significativamente diferentes com $P < 0,05$. As setas azuis indicam linhas de ressonância estreitas que correspondem aos marcadores que não entraram na membrana, ficando livres na solução fora da célula.



Fonte: autoria própria.

Considerando uma margem de erro experimental de aproximadamente 0,3 G para o parâmetro $2A_{//}$, o aumento em cerca de 3 G nesse valor, observado após o tratamento com 20 μ M de MIL, indica um enrijecimento expressivo da membrana plasmática, refletindo uma redução na mobilidade molecular capaz de impactar funções essenciais da célula, como o transporte de moléculas, a sinalização celular

e a manutenção da integridade estrutural, conforme já descrito na literatura [40]. Esse efeito de enrijecimento da membrana induzido pela MIL tem sido associado ao estresse oxidativo na membrana, decorrente do aumento na formação intracelular de EROs [56].

De forma semelhante ao observado para a MIL, os tratamentos com os compostos LQFM 424 (5) e LQFM 425 (3), ambos na concentração de 50 μ M, também promoveram elevação nos valores de $2A_{//}$, de aproximadamente 3 G e 2 G, respectivamente. Assim, esses resultados evidenciam que ambos os compostos são capazes de aumentar a rigidez da membrana plasmática e interferir em sua dinâmica molecular, gerando efeitos similares aos observados para a MIL.

4.6 Proposição do mecanismo de ação dos compostos LQFM 424 (5) e LQFM 425 (3)

A integridade da membrana plasmática é um fator determinante para a sobrevivência de protozoários do gênero *Leishmania*, uma vez que essa estrutura é responsável pela manutenção do equilíbrio eletrolítico, da homeostase celular e da funcionalidade metabólica. Em virtude dessa importância vital, fármacos utilizados no tratamento da leishmaniose, como a AmB e a MIL, têm a membrana plasmática como um de seus principais alvos de ação, promovendo a formação de canais iônicos ou alterações na organização lipídica, o que resulta em vazamento de íons e desequilíbrio eletrolítico celular. Esse vazamento iônico atua como um gatilho para o colapso interno, uma vez que o aumento na produção de EROs tem sido amplamente associado ao efluxo iônico transmembranar [43,56]. O mecanismo de ação da AmB exemplifica essa natureza multifatorial: a formação de canais iônicos na membrana plasmática não apenas compromete a barreira física externa, mas também desencadeia alterações críticas nos potenciais elétricos celular e mitocondrial e, conseqüentemente, amplia o estresse oxidativo por meio da geração exacerbada de EROs, culminando na indução de vias de morte celular programada, como a apoptose [56,57].

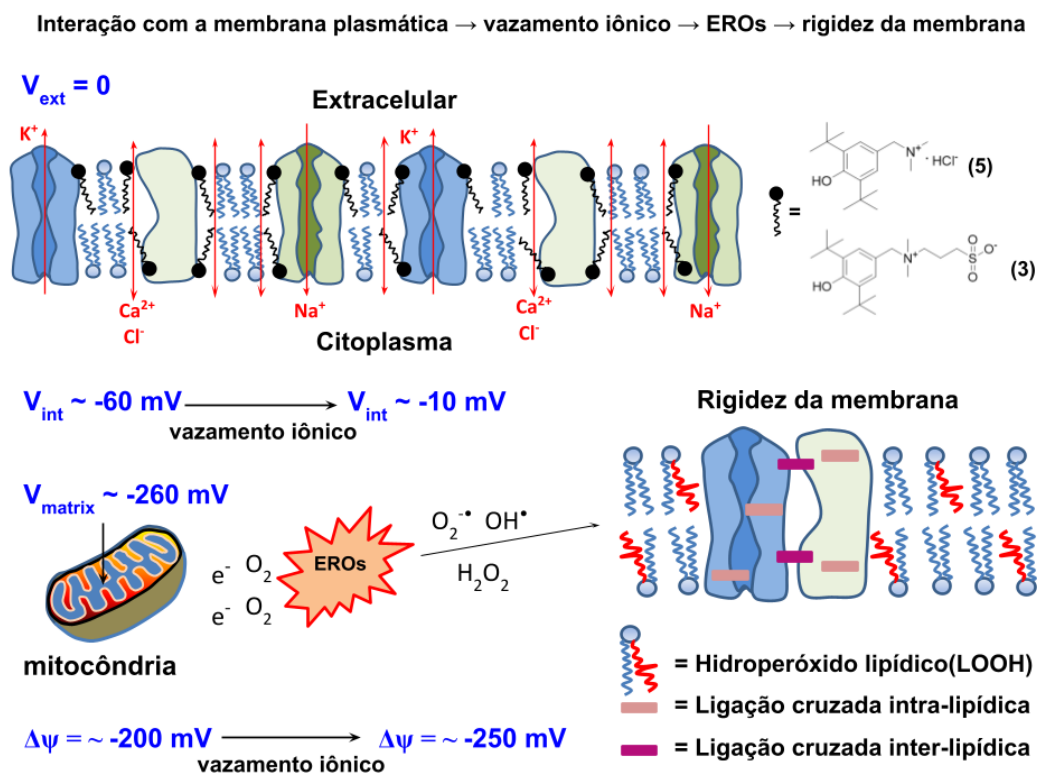
Compostos de natureza hidrofóbica, como o HPS, apresentam elevados coeficientes de partição em membranas biológicas [42,58], o que favorece sua ancoragem na bicamada lipídica e a subsequente desestabilização da dinâmica de membrana plasmática. A incorporação desses compostos à membrana promove alterações estruturais capazes de comprometer o equilíbrio eletrolítico

celular, processo este fundamentado por modelos teóricos que atribuem o aumento da permeabilidade tanto à difusão direta do composto pela fase hidrofóbica quanto à indução de poros transitórios na arquitetura da membrana [59,60]. Sob ambas as perspectivas, a permeabilidade iônica é potencializada por fatores como o aumento da fluidez da bicamada ou a elevação da temperatura, os quais convergem para um estado de desequilíbrio metabólico que favorece a atividade leishmanicida.

No caso específico do surfactante HPS, observa-se um perfil de atuação semelhante ao da MIL, com efeitos predominantes sobre os componentes proteicos da membrana e aumento de sua dinâmica molecular [42]. O incremento da mobilidade das proteínas de membrana pode comprometer a integridade da barreira celular, favorecendo o vazamento de íons tanto por meio de canais proteicos quanto nas interfaces entre proteínas e lipídios. À medida que essas proteínas transmembranares se tornam mais dinâmicas, ocorre interferência no arranjo organizado dos lipídios adjacentes, gerando distúrbios estruturais que facilitam a formação temporária de poros ou microdomínios com organização lipídica alterada. Como consequência, a energia necessária para a passagem de pequenas moléculas ou íons através da bicamada lipídica é significativamente reduzida, resultando em aumento da permeabilidade da membrana plasmática.

Os efeitos dos compostos LQFM 424 (5) e LQFM 425 (3) sobre *L. amazonensis* podem ser interpretados à luz dessas alterações na integridade e no potencial elétrico da membrana celular (Figura 19).

Figura 19 - Esquematização do mecanismo de ação leishmanicida dos compostos LQFM 424 (5) e LQFM 425 (3): proposta de cascata biológica iniciada pela interação com a membrana plasmática, seguida de flutuações nos potenciais elétricos das membranas celular e mitocondrial, geração de EROs e aumento da rigidez da membrana plasmática decorrente do estresse oxidativo.



Fonte: autoria própria.

Por convenção, o potencial elétrico no meio extracelular é considerado 0 mV, enquanto o citoplasma celular apresenta potencial em torno de -60 mV. Como a membrana externa da mitocôndria é permeável a íons, o espaço intermembranas mantém esse mesmo potencial, ao passo que o potencial da membrana mitocondrial interna ($\Delta\psi_m$) é aproximadamente -200 mV, resultando em um potencial total na matriz mitocondrial em torno de -260 mV. A indução do vazamento de íons pela ação dos compostos LQFM 424 (5) e LQFM 425 (3) pode levar à despolarização da membrana plasmática, com elevação do potencial citoplasmático para valores próximos a -10 mV, por exemplo. Essa alteração abrupta promove inicialmente uma hiperpolarização da membrana mitocondrial interna, elevando o $\Delta\psi_m$ para valores próximos de -250 mV. Embora a célula disponha de mecanismos regulatórios capazes de atenuar variações extremas no potencial de membrana, alterações intensas favorecem o escape de elétrons, especialmente nos complexos I e III da cadeia respiratória mitocondrial. Esses elétrons livres podem reagir com o oxigênio

molecular, originando ânions superóxido, uma forma altamente reativa e citotóxica de EROs [61]. A produção exacerbada dessas espécies reativas desencadeia uma cascata de eventos celulares deletérios, incluindo peroxidação lipídica, aumento da rigidez da membrana e comprometimento das funções estruturais e fisiológicas do parasita, contribuindo de maneira decisiva para a morte celular.

5 CONCLUSÃO

Os dados espectroscópicos de RMN obtidos neste estudo mostraram-se consistentes com as estruturas propostas para os compostos LQFM 424 (**5**) e LQFM 425 (**3**), confirmando a eficácia e a reprodutibilidade da rota sintética empregada. De forma complementar, os resultados obtidos por RPE reforçam a hipótese de que a ação dos compostos está associada à indução de estresse oxidativo decorrente do aumento da produção de EROs, como consequência direta das alterações na integridade da membrana celular, que promovem o vazamento de íons e perturbações nos potenciais das membranas plasmática e mitocondrial, culminando em danos celulares irreversíveis e, consequentemente, na morte do parasita. Diante desse cenário, abre-se a perspectiva para o planejamento e a síntese de novos derivados estruturais dos compostos LQFM 424 (**5**) e LQFM 425 (**3**), com modificações direcionadas ao aumento da lipofilicidade, visando intensificar a interação com a bicamada lipídica e, consequentemente, promover a redução dos valores de IC_{50} e o aumento significativo do parâmetro $2A_{//}$ para concentrações moleculares comparáveis a da MIL. Essa abordagem poderá contribuir para a obtenção de protótipos de fármacos mais potentes, seletivos e com redução de efeitos adversos, superando as limitações terapêuticas apresentadas pelos medicamentos atualmente utilizados há décadas. Portanto, investir no desenvolvimento de novos compostos com propriedades estruturais otimizadas é fundamental para ampliar o arsenal terapêutico contra as leishmanioses, viabilizando, futuramente, a implementação de tratamentos mais eficazes, seguros e acessíveis, o que reitera a relevância da inovação farmacêutica no enfrentamento das DTNs, com reflexos diretos na saúde pública e na promoção da qualidade de vida das populações acometidas.

REFERÊNCIAS

- [1] A.N.S. Maia-Elkhoury, C.A. Hernández, C. Ovalle-Bracho, J. Soto, S. Valadas, Atlas interativo de leishmanioses nas Américas: aspectos clínicos e diagnósticos diferenciais, Organização Pan-Americana da Saúde, Washington, D.C., 2026. pp.3, 24, 31, 48, 54-63. <https://iris.paho.org/handle/10665.2/54129>.
- [2] S. Mann, K. Frasca, S. Scherrer, A.F. Henao-Martínez, S. Newman, P. Ramanan, J.A. Suarez, A Review of Leishmaniasis: Current Knowledge and Future Directions, *Curr. Trop. Med. Rep.* 8 (2021) 121–132. <https://doi.org/10.1007/s40475-021-00232-7>.
- [3] Secretaria de Vigilância em Saúde, Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana, Ministério da Saúde, Brasília (2017).
- [4] D.E. Teixeira, M. Benchimol, J.C.F. Rodrigues, P.H. Crepaldi, P.F.P. Pimenta, W. de Souza, Atlas didático: Ciclo de vida da Leishmania, Fundação CECIERJ/Consórcio CEDERJ, Rio de Janeiro (2013).
- [5] A.C. Costa-da-Silva, D.O. Nascimento, J.R.M. Ferreira, K. Guimarães-Pinto, L. Freire-de-Lima, A. Morrot, D. Decote-Ricardo, A.A. Filardy, C.G. Freire-de-Lima, Immune Responses in Leishmaniasis: An Overview, *Trop. Med. Infect. Dis.* 7 (2022) 54. <https://doi.org/10.3390/tropicalmed7040054>.
- [6] Organização Pan-Americana da Saúde, Leishmaniose. <https://www.paho.org/pt/topicos/leishmaniose> (acessado em 16 mar. 2026).
- [7] World Health Organization, Leishmaniasis. https://www.who.int/health-topics/leishmaniasis#tab=tab_1 (acessado em 16 mar. 2026).
- [8] Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Leishmaniasis – DPDx, CDC. <https://www.cdc.gov/dpdx/leishmaniasis/index.html>, 2024 (acessado em 16 mar. 2026).
- [9] G. R. Awab, Leishmaniasis Epidemiology and Psychosocial Aspect, IntechOpen eBooks, 2023. <https://doi.org/10.5772/intechopen.110568>.
- [10] World Health Organization, Control of Neglected Tropical Diseases, Geneva. http://www.who.int/neglected_diseases/diseases/en/#, 2020 (acessado em 16 mar. 2026).
- [11] E. Torres-Guerrero, M.R. Quintanilla-Cedillo, J. Ruiz-Esmenjaud, R. Arenas, Leishmaniasis: a review, *F1000Research* 6 (2017) 750. <https://doi.org/10.12688/f1000research.11120.1>.
- [12] Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS), Leishmanioses: informe epidemiológico da Região das Américas, n. 14, 2025, pp. 2–8. <https://iris.paho.org/handle/10665.2/69655>.

[13] Organização Pan-Americana da Saúde, Plano de ação para fortalecer a vigilância e o controle das leishmanioses nas Américas, 2023–2030, Washington, D.C., 2024. <https://iris.paho.org/handle/10665.2/61620>.

[14] Ministério da Saúde, Painel de Monitoramento da Leishmaniose Visceral - Dashboard 1.
[https://leishmanioses.aids.gov.br/app/dashboards?auth_provider_hint=anonymous1#/view/041e37d7-6f08-463e-8dd0-e43c5c2b34c4?embed=true&g=\(\)&show-top-menu=false](https://leishmanioses.aids.gov.br/app/dashboards?auth_provider_hint=anonymous1#/view/041e37d7-6f08-463e-8dd0-e43c5c2b34c4?embed=true&g=()&show-top-menu=false), 2024 (acessado em 16 mar. 2026).

[15] Ministério da Saúde, Painel de Monitoramento da Leishmaniose Tegumentar - Dashboard 2.
[https://leishmanioses.aids.gov.br/app/dashboards?auth_provider_hint=anonymous1#/view/5fc3a7ec-22b9-4402-9a52-a5001ca659ad?embed=true&g=\(\)&show-top-menu=false](https://leishmanioses.aids.gov.br/app/dashboards?auth_provider_hint=anonymous1#/view/5fc3a7ec-22b9-4402-9a52-a5001ca659ad?embed=true&g=()&show-top-menu=false), 2024 (acessado em 16 mar. 2026).

[16] Ministério da Saúde, Departamento de Informática do SUS (DATASUS), Leishmaniose Tegumentar Americana: casos confirmados – SINAN. <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sinannet/cnv/ltabr.def>, 2025 (acessado em 16 mar. 2026).

[17] Ministério da Saúde, Departamento de Informática do SUS (DATASUS), Leishmaniose Visceral: casos confirmados – SINAN. <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sinannet/cnv/leishvbr.def>, 2025 (acessado em 16 mar. 2026).

[18] H. L. Choi, S. Jain, J. A. Ruiz Postigo, B. Borisch, D. A. Dagne, The global procurement landscape of leishmaniasis medicines, *PLOS Negl. Trop. Dis.* 15 (2021) e0009181. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009181>.

[19] P. J. Hotez, D. H. Molyneux, A. Fenwick, J. Kumaresan, S. E. Sachs, J. D. Sachs, L. Savioli, Control of neglected tropical diseases, *N. Engl. J. Med.* 357 (2007) 1018–1027. <https://doi.org/10.1056/NEJMr064142>.

[20] Organização das Nações Unidas – Brasil, OMS lança plano de 10 anos para acabar com sofrimento causado por doenças tropicais negligenciadas. <https://brasil.un.org/pt-br/110612-oms-lanca-plano-de-10-anos-para-acabar-com-sofrimento-causado-por-doencas-tropicais>, 2021 (acessado em 16 mar. 2026).

[21] J.V. da Silva Pereira, I.C. Guedes, M.H. dos Santos Vieira, A.W. Dantas Rodrigues, A.M.F. Bezerra, Leishmaniose como doença negligenciada: impactos epidemiológicos, sociais e clínicos no contexto nordestino, *Rev. Cad. Pedag.*, v. 22, n. 9, p. 1–18, 2025. <https://doi.org/10.54033/cadpedv22n9-199>.

[22] Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS), Leishmaniose cutânea e mucosa. <https://www.paho.org/pt/topicos/leishmaniose/leishmaniose-cutanea-e-mucosa> (acessado em 16 mar. 2026).

[23] G. Volpedo, T. Pacheco-Fernandez, E. A. Holcomb, N. Cipriano, B. Cox, A. R. Satoskar, Mechanisms of immunopathogenesis in cutaneous leishmaniasis and post

kala-azar dermal leishmaniasis (PKDL), *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 11 (2021) 685296. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.685296>.

[24] Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS), Leishmaniose visceral. <https://www.paho.org/pt/topicos/leishmaniose/leishmaniose-visceral> (acessado em 16 mar. 2026).

[25] I.A.A. Bessa, D.L. D'Amato, A.B.C. Souza, D.P. Levita, C.C. Mello, A.F.M. da Silva, T.C. dos Santos, C.M. Ronconi, Innovating Leishmaniasis Treatment: A Critical Chemist's Review of Inorganic Nanomaterials, *ACS Infect. Dis.* 10 (2024) 2485–2506. <https://doi.org/10.1021/acsinfecdis.4c00231>.

[26] S. Pradhan, R.A. Schwartz, A. Patil, S. Grabbe, M. Goldust, Treatment options for leishmaniasis, *Clin. Exp. Dermatol.* 47 (2022) 516–521. <https://doi.org/10.1111/ced.14919>.

[27] A.S. Santiago, S.S.R. Pita, E.T. Guimarães, Leishmaniasis treatment, current therapy limitations and new alternative requirements: A narrative review, *Res. Soc. Dev.* 10 (2021) e29510716543. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i7.16543>.

[28] Organização Pan-Americana da Saúde, Diretrizes para o tratamento das leishmanioses na Região das Américas, OPAS, 2022.

[29] G. Benaim, A. Paniz-Mondolfi, Unmasking the mechanism behind miltefosine: revealing the disruption of intracellular Ca^{2+} homeostasis as a rational therapeutic target in leishmaniasis and Chagas disease, *Biomolecules* 14 (2024) 406. <https://doi.org/10.3390/biom14040406>.

[30] S. Sasidharan, P. Saudagar, Leishmaniasis: where are we and where are we heading?, *Parasitol. Res.* 120 (2021) 1541–1554. <https://doi.org/10.1007/s00436-021-07139-2>.

[31] A. Abragam, B. Bleaney, *Electron Paramagnetic Resonance of Transition Ions*, primeira edição, Clarendon Press, Oxford, 1970.

[32] B. Commoner, J. Townsend, G.E. Pake, Free radicals in biological materials, *Nature* 174 (1954) 689. <https://doi.org/10.1038/174689a0>.

[33] H.M. Swartz, J.R. Bolton, D.C. Borg, *Biological Applications of Electron Spin Resonance*, Wiley-Interscience, John Wiley & Sons, New York, 1972.

[34] N.M. Atherton, *Principles of Electron Spin Resonance*, Ellis Horwood, New York, 1993.

[35] J.A. Weil, J.R. Bolton, *Electron Paramagnetic Resonance: Elementary Theory and Practical Applications*, John Wiley & Sons, Hoboken, 2007.

[36] P. Atkins, J. de Paula, *Físico-Química*, nona ed., Bookman, Porto Alegre, 2011.

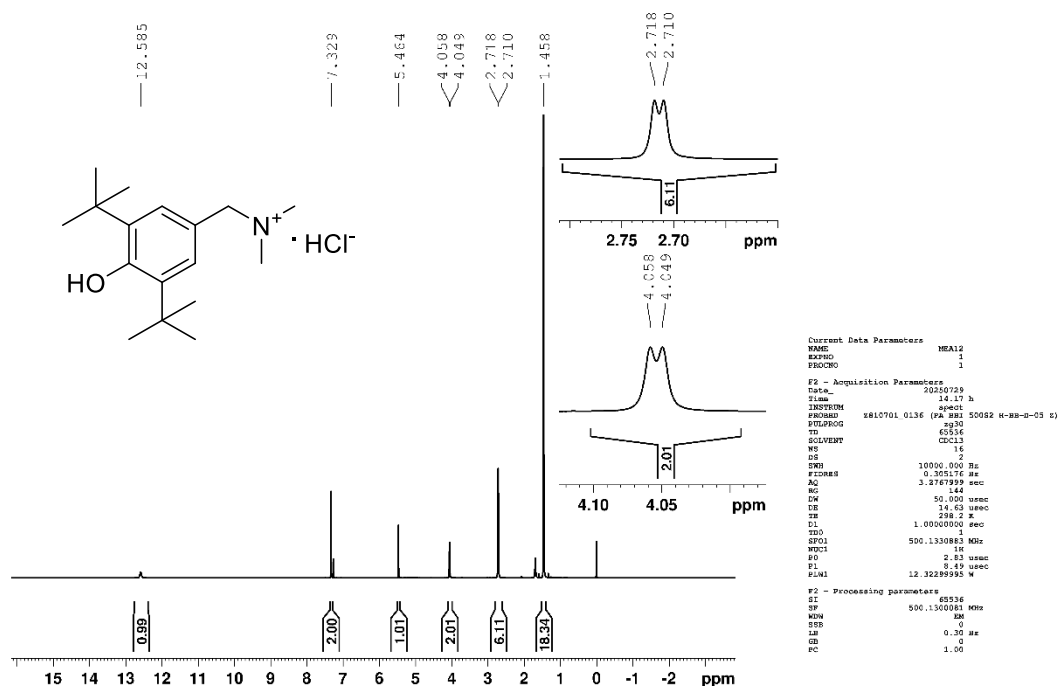
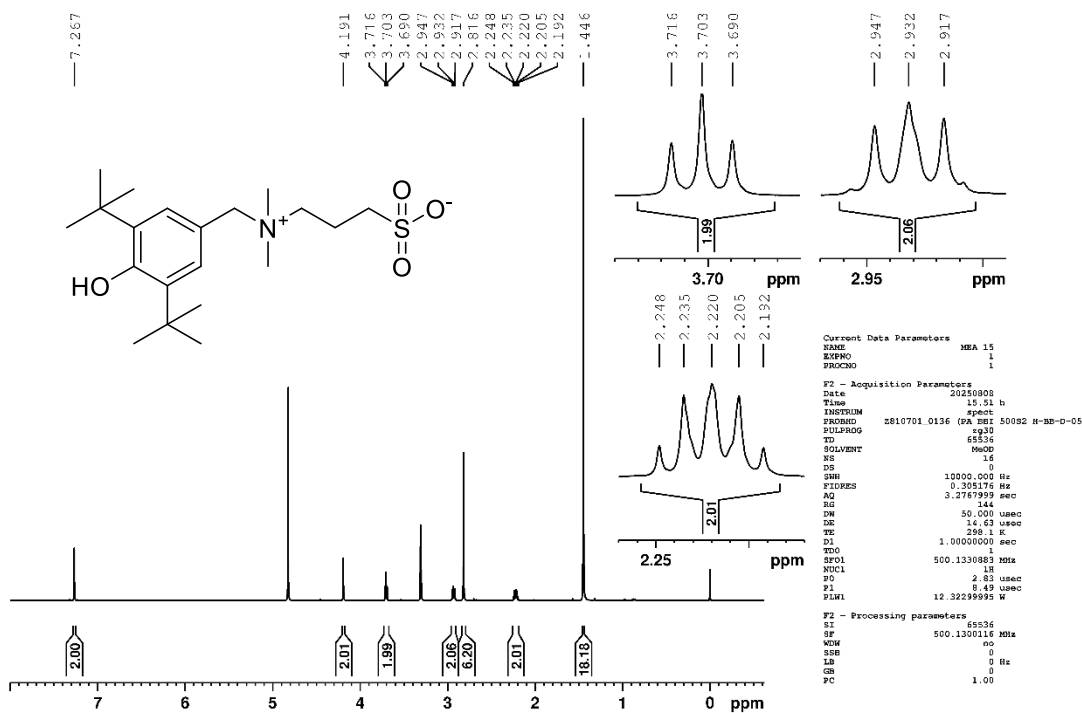
- [37] M. Brustolon, E. Giamello, *Electron Paramagnetic Resonance: A Practitioner's Toolkit*, John Wiley & Sons, 2009.
- [38] C.E.G. Salmon, D. Sousa Neto, M. Tabak, A.J.C. Filho, Simulação de espectros de ressonância paramagnética eletrônica (RPE) através do programa NLSL, *Quím. Nova* 30 (2007) 1240–1248. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000500036>.
- [39] F. Torricella, A. Pierro, E. Mileo, V. Belle, A. Bonucci, Nitroxide spin labels and EPR spectroscopy: A powerful association for protein dynamics studies, *Biochim. Biophys. Acta Proteins Proteomics* 1869 (2021) 140653. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2021.140653>.
- [40] R.A. Moreira, S.A. Mendanha, K.S. Fernandes, G.G. Matos, L. Alonso, M.L. Dorta, A. Alonso, Miltefosine increases lipid and protein dynamics in *Leishmania amazonensis* membranes at concentrations similar to those needed for cytotoxicity activity, *Antimicrob. Agents Chemother.* 58 (2014) 3021–3028. <https://doi.org/10.1128/AAC.01332-13>.
- [41] S.M. Shaban, J. Kang, D.-H. Kim, Surfactants: Recent advances and their applications, *Compos. Commun.* 22 (2020) 100537. <https://doi.org/10.1016/j.coco.2020.100537>.
- [42] L. Alonso, É.J.S. Cardoso, R.S. Gomes, S.A. Mendanha, M.L. Dorta, A. Alonso, Antileishmanial and cytotoxic activities of ionic surfactants compared to those of miltefosine, *Colloids Surf. B Biointerfaces* 183 (2019) 110421. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.110421>.
- [43] E.N. Borges, K.S. Freitas e Silva, E.J.S. Cardoso, R.S. Gomes, E.M. Lima, S.A. Mendanha, A. Alonso, Nerolidol and a zwitterionic surfactant induce membrane rigidity in *Leishmania amazonensis* and infected macrophages, *Colloids Surf. B Biointerfaces* 257 (2026) 115156. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2025.115156>.
- [44] E.L. Eliel, M.T. Fisk, 5-methylfurfuryldimethylamine, *Org. Synth.* 35 (1955) 78; *Org. Synth., Coll. Vol. 4* (1963) 626.
- [45] Z. Chu, Y. Feng, Thermo-switchable surfactant gel, *Chem. Commun.* 47 (2011) 7191–7193. <https://doi.org/10.1039/C1CC11428J>.
- [46] M. Ghasemi, T. Turnbull, S. Sebastian, I. Kempson, The MTT assay: Utility, limitations, pitfalls, and interpretation in bulk and single-cell analysis, *Int. J. Mol. Sci.* 22 (2021) 12827. <https://doi.org/10.3390/ijms222312827>.
- [47] C. Sanjai, S.S. Hakkimane, B.R. Guru, S.L. Gaonkar, A comprehensive review on anticancer evaluation techniques, *Bioorg. Chem.* 142 (2024) 106973. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2023.106973>.
- [48] C.A. Lipinski, F. Lombardo, B.W. Dominy, P.J. Feeney, Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 23 (1997) 3–25. [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(96\)00423-1](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(96)00423-1).

- [49] D.F. Veber, S.R. Johnson, H.-Y. Cheng, B.R. Smith, K.W. Ward, K.D. Kopple, Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates, *J. Med. Chem.* 45 (2002) 2615–2623. <https://doi.org/10.1021/jm020017n>.
- [50] C.A. Lipinski, Lead- and drug-like compounds: the rule-of-five revolution, *Drug Discov. Today Technol.* 1 (2004) 337–341. <https://doi.org/10.1016/j.ddtec.2004.11.007>.
- [51] D. L. Pavia, G. M. Lampman, G. S. Kriz, J. R. Vyvyan, *Introdução à espectroscopia*, quarta ed., Cengage Learning, Bellingham, 2009.
- [52] H. F. S. Neri, Avaliação do efeito protetor de novos candidatos a protótipos de fármacos em modelos experimentais de neurotoxicidade, Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brasil, 2017.
- [53] I. G. C. Santana, L. S. Almeida, L. K. S. Moreira, F. S. Carvalho, R. Menegatti, A. L. B. Rocha, T. A. Mazurok, B. G. Vaz, L. M. Lião, A. F. Brito, J. O. F. Fajemiroye, E. A. Costa, P. M. G. Carvalho, Structure–activity relationship of three new piperazine derivatives with anxiolytic-like and antidepressant-like effects, *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 100 (2022) 521–533. <https://doi.org/10.1139/cjpp-2021-0729>.
- [54] R. Ward, J. Davies, G. Hodges, D. Roberts, Synthesis of quaternary alkylammonium sulfobetaines, *Synthesis* 16 (2002) 2431–2439. <https://doi.org/10.1055/S-2002-35215>.
- [55] É.J.S. Cardoso, E.N. Borges, K.S.F. e Silva, R.S. Gomes, F.T. Boni, J.K.A. Pereira, P.M.A. Mangoba, L.M. Lião, R. Menegatti, A. Alonso, Antileishmanial, cytotoxic activities, and membrane rigidity effects of three synthetic compounds, *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* 1867 (2025) 184450. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2025.184450>.
- [56] E.N. Borges, K.S.F. e Silva, É.J.S. Cardoso, E.M. Lima, S.A. Mendanha, A. Alonso, Miltefosine and amphotericin B induce membrane rigidity in *Leishmania amazonensis* and *Leishmania*-infected macrophages, *Arch. Biochem. Biophys.* (2025) 110417. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2025.110417>.
- [57] S. Kumari, V. Kumar, R.K. Tiwari, V. Ravidas, K. Pandey, A. Kumar, Amphotericin B: A drug of choice for Visceral Leishmaniasis, *Acta Trop.* 235 (2022) 106661. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2022.106661>.
- [58] L. Alonso, K.S. Fernandes, S.A. Mendanha, P.J. Gonçalves, R.S. Gomes, M.L. Dorta, A. Alonso, *In vitro* antileishmanial and cytotoxic activities of nerolidol are associated with changes in plasma membrane dynamics, *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* 1861 (2019) 1049–1056. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2019.03.006>.
- [59] A.G. Volkov, S. Paula, D.W. Deamer, Two mechanisms of permeation of small neutral molecules and hydrated ions across phospholipid bilayers, *Bioelectrochem. Bioenerg.* 42 (1997) 153–160. [https://doi.org/10.1016/S0302-4598\(96\)05097-0](https://doi.org/10.1016/S0302-4598(96)05097-0).

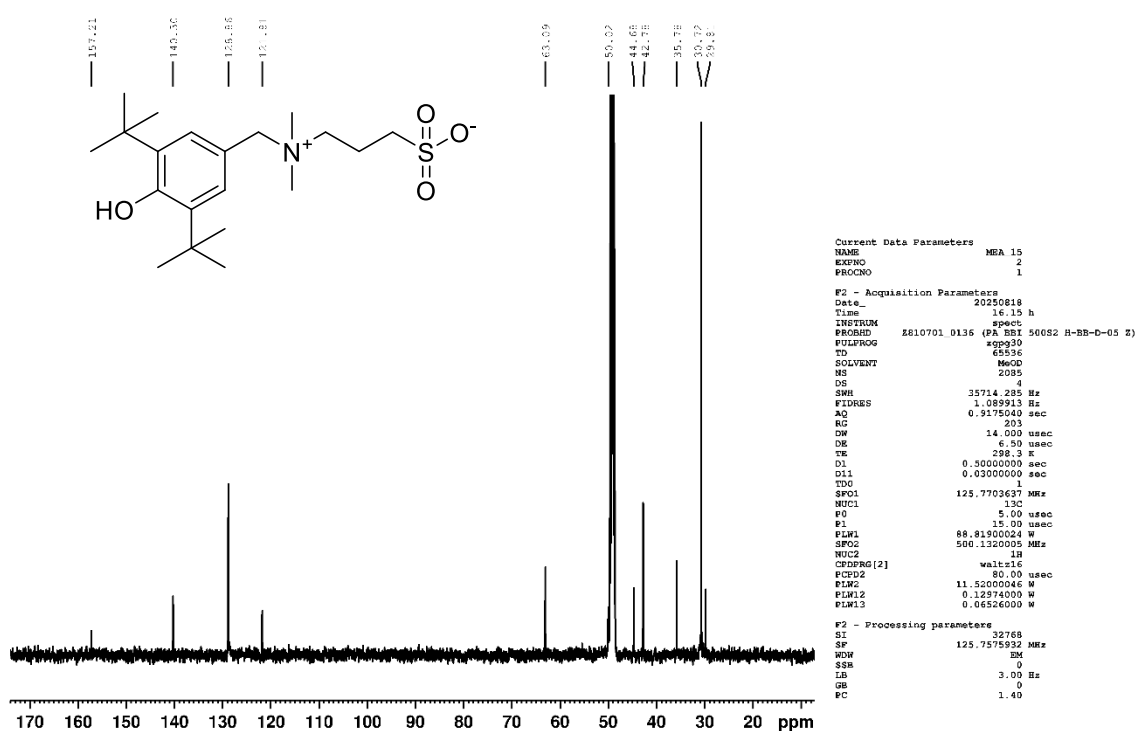
[60] A.A. Gurtovenko, I. Vattulainen, Ion leakage through transient water pores in protein-free lipid membranes driven by transmembrane ionic charge imbalance, *Biophys. J.* 92 (2007) 1878–1890. <https://doi.org/10.1529/biophysj.106.094797>.

[61] L. Su, J. Zhang, H. Gomez, R. Murugan, X. Peng, J.A. Kellum, Mitochondria ROS and mitophagy in acute kidney injury, *Autophagy* 19 (2023) 401–414. <https://doi.org/10.1080/15548627.2022.2084862>.

ANEXOS

ANEXO A – Espectro de RMN de ^1H do composto LQFM 424 (**5**) em CDCl_3 .ANEXO B – Espectro de RMN de ^1H do composto LQFM 425 (**3**) em CD_3OD .

ANEXO C – Espectro de RMN de ^{13}C do composto LQFM 425 (**3**) em CD_3OD .



ANEXO D – Espectro de RMN de HSQC do composto LQFM 425 (**3**) em CD_3OD .

