



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

INSTITUTO DE QUIMICA

GRADUAÇÃO EM QUIMICA INDUSTRIAL

EMANUELLY SILVA LANDIN

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE UMA CLASSE DE
SULFONILPIPERAZINAS COM POTENCIAL ATIVIDADE CONTRA
LEISHMANIA INFANTUM, AGENTE CAUSADOR DA LEISHMANIOSE**

UBERLÂNDIA-MG

2024

EMANUELLY SILVA LANDIN

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE UMA CLASSE DE
SULFONILPIPERAZINAS COM POTENCIAL ATIVIDADE CONTRA
LEISHMANIA INFANTUM, AGENTE CAUSADOR DA LEISHMANIOSE**

**Trabalho de conclusão apresentado ao curso de
Química Industrial da Universidade Federal de
Uberlândia como requisito parcial para
obtenção do título de bacharel, em Química
Industrial.**

Orientador: Celso de Oliveira Rezende Junior

UBERLÂNDIA - MG

2024



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Coordenação do Curso de Graduação em Química Industrial
Av. João Naves de Ávila, 2121, Bloco 1A, Sala 1A233 - Bairro Santa Mônica, Uberlândia-
MG, CEP 38400-902
Telefone: (34) 3239-4103 - coqin@iqufu.ufu.br



ATA DE DEFESA - GRADUAÇÃO

Curso de Graduação em:	Química Industrial				
Defesa de:	Trabalho de Conclusão de Curso - QQB056				
Data:	26/04/2024	Hora de início:	14:00	Hora de encerramento:	16:50
Matrícula do Discente:	11811QID042				
Nome do Discente:	Emanuelly Silva Landim				
Título do Trabalho:	Síntese e caracterização de uma classe de sulfonilpiperazinas com potencial atividade contra leishmania infantum, agente causador da leishmaniose.				
A carga horária curricular foi cumprida integralmente?	<input checked="" type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não				

Reuniu-se no anfiteatro da Pós Graduação do Instituto de Química o Campus Santa Mônica da Universidade Federal de Uberlândia, a Banca Examinadora, designada pelo Coordenador do Curso de Graduação em Química Industrial, assim composta: Prof. Dr. Celso de Oliveira Rezende Junior - **Orientador**; Prof. Dr. João Marcos Madurro - Titular; Prof. Dr. Francisco José Tôrres de Aquino - Titular e Prof. Dr. Bruno Henrique Sacoman Torquato da Silva - Suplente.

Iniciando os trabalhos, o(a) presidente da mesa, Dr. Celso de Oliveira Rezende Junior, apresentou a Comissão Examinadora e o(a) candidato(a), agradeceu a presença do público, e concedeu ao(à) discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do(a) discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do curso.

A seguir o(a) senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovado(a) Nota: 97 pontos
 Reprovado(a)

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Celso de Oliveira Rezende Júnior, Professor(a) do Magistério Superior**, em 26/04/2024, às 17:00, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Francisco José Torres de Aquino, Professor(a) do Magistério Superior**, em 26/04/2024, às 17:01, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **João Marcos Madurro, Professor(a) do Magistério Superior**, em 29/04/2024, às 08:32, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **5320075** e o código CRC **C4E12B62**.

Referência: Processo nº 23117.024472/2024-21

SEI nº 5320075

AGRADECIMENTO

Em primeiro lugar, agradeço meus pais, Maria das Graças e Odelmo, meus irmãos Grazielly e Geovane e meus sobrinhos Aniely e Herik pelo amor, apoio e incentivo durante todos os anos de faculdade.

Agradeço a Milena, minha namorada e companheira, por todo amor, carinho, paciência e apoio ao longo desse período.

Aos meus amigos, Rafaela e Rafael, por sua amizade, conversas, dias de estudos e bons momentos que tornaram os dias mais leves; a minha amiga Samara, por todo apoio e cuidado que teve comigo ao longo dos anos.

Ao meu orientador, Prof. Celso de Oliveira Rezende Jr, gostaria de expressar meu agradecimento por toda sua ajuda, paciência e ensinamentos que foram fundamentais para todo meu desenvolvimento e interesse pela química medicinal, desde minha iniciação científica até o encerramento desse ciclo.

Aos meus companheiros de pesquisa, Ana Clara, Douglas, Thibault e Danilo pela ajuda e incentivo na área da química e pesquisa.

Ao João Marcos, Francisco José Aquino e Bruno Henrique por aceitarem compor a banca examinadora deste trabalho e trazerem contribuições pertinentes.

Por fim, agradeço a todos os professores, técnicos, outros funcionários e demais membros da comunidade acadêmica da Universidade Federal de Uberlândia por terem sido parte desta jornada. Em especial, agradeço ao meu Grupo de Pesquisa (LaSFar), Instituto de Química da UFU e CNPq pelo suporte financeiro e bolsas concedidas e a FIOCRUZ-MG pelas colaborações no projeto e realização dos testes biológicos.

RESUMO

A leishmaniose é uma enfermidade de origem parasitária causada pelo protozoário *Leishmania infantum*; é considerada pela Organização Mundial da Saúde como uma doença tropical negligenciada. Atualmente, não existe uma cura para essa doença, sendo a principal forma de tratamento os medicamentos Glucantime e Anfotericina B, esses fármacos possuem certa eficiência no tratamento, no entanto, possuem uma alta toxicidade e efeitos colaterais severos. Diante desse contexto se faz necessário o desenvolvimento de novos fármacos, mais eficientes, menos tóxicos e de baixo custo para o tratamento dessa doença. Neste trabalho, foram sintetizados e caracterizados três compostos de uma classe de sulfonilpiperazinas, tendo como base trabalhos previamente realizados pelo nosso grupo de pesquisa onde foi realizado o estudo de uma série de compostos com potencial atividade contra o *T. cruzi* (agente causador da doença de Chagas) e *L. infantum*, a partir do planejamento e modificações químicas nos fragmentos de um composto protótipo (hit inicial) a fim de melhorar a suas atividades biológicas. Após a análise dos trabalhos, foi realizado um planejamento de três novas modificações, sendo elas no fragmento benzenossulfononila, onde se manteve a carbonila do fragmento amino-arila e a relação *meta* entre oxigênio e o nitrogênio da piperazina. Os três derivados foram sintetizados em 4 etapas e caracterizados por RMN de ^1H e ^{13}C . Após a síntese e caracterização dos compostos, foram realizados os ensaios biológicos contra a *L. infantum*. Os resultados mostraram que os compostos tiveram uma diminuição da atividade contra a *L. infantum* em relação aos compostos obtidos previamente pelo grupo, uma vez que o IC_{50} do composto mais ativo é de $0,59\ \mu\text{M}$ e a melhor atividade biológica obtida neste trabalho foi de $4,96\ \mu\text{M}$ para o derivado **4c**. Esse trabalho contribui para a compreensão da relação entre estrutura química e atividade biológica de compostos da classe sulfonilpiperazinas e no desenvolvimento de novos candidatos a fármacos contra a Leishmaniose.

Palavras-chave: Leishmaniose. *L. infantum*. Derivados. Atividade.

ABSTRACT

Leishmaniasis is a parasitic disease caused by the protozoan *Leishmania infantum*; it is considered by the World Health Organization to be a neglected tropical disease. Currently, there is no cure for this disease, and the main form of treatment is the drugs Glucantime and Amphotericin B. These drugs have a certain efficiency in treatment, however, they have high toxicity and severe side effects. In this context, it is necessary to develop new, more efficient, less toxic and low-cost drugs for the treatment of this disease. In this work, three compounds from a class of sulfonylpiperazines were synthesized and characterized, based on work previously carried out by our research group in which a series of compounds with potential activity against *T. cruzi* (the causative agent of Chagas' disease) and *L. infantum* were studied, based on the planning and chemical modifications to the fragments of a prototype compound (initial hit) in order to improve their biological activities. After analyzing the work, three new modifications were planned, namely to the benzenesulfonyl fragment, where the carbonyl of the amino-aryl fragment and the *meta* ratio between oxygen and nitrogen of piperazine were maintained. The three derivatives were synthesized in 4 steps and characterized by ^1H and ^{13}C NMR. After synthesizing and characterizing the compounds, biological tests were carried out against *L. infantum*. The results showed that the compounds had a decrease in activity against *L. infantum* compared to the compounds previously obtained by the group, since the IC_{50} of the most active compound is $0.59\ \mu\text{M}$ and the best biological activity obtained in this work was $4.96\ \mu\text{M}$ for derivative **4c**. This work contributes to the understanding of the relationship between chemical structure and biological activity of compounds of the sulfonylpiperazine class and to the development of new drug candidates against Leishmaniasis.

Keywords: Leishmaniasis. *L. infantum*. Derivatives. Activity

LISTA DE ABREVIACOES

AcOEt: Acetato de etila

Boc: Terc-butoxicarbonila

CCD: Cromatografia em Camada Delgada

CC₅₀: Concentração Citotxica para redução de 50% da viabilidade celular

DNDi: Drugs for Neglected Disease iniciative

DNT's: Doenças tropicais negligenciadas

DCM: Diclorometano

DMF: N,N-dimetilformamida

EDC: Cloridrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida

Et₃N: Trietilamina

Hex: Hexano

HOBt: N-hidroxibenzotriazol

IC₅₀: Concentração mínima para inibição de 50% do alvo

IS: ndice de Seletividade

MeOH: Metanol

OMS: Organização Mundial da Saúde

RMN: Ressonância magnética nuclear.

TButNa⁺: Terc-butóxido de sódio

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Número de novos casos de leishmaniose visceral por UF registrados em 2022 no Brasil	13
Figura 2 - Ciclo de vida da <i>Leishmania Infantum</i>	14
Figura 3 - Boletim informativo mosquito palha.....	15
Figura 4 - Representação estrutural dos fármacos utilizados para tratamento da LVH.....	16
Figura 5 – Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) do intermediário 1.....	22
Figura 6 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do intermediário 2.....	23
Figura 7 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO) do intermediário 3.....	24
Figura 8 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do derivado 4a.....	26
Figura 9 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do derivado 4b.....	26
Figura 10 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do derivado 4c.....	27

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 – Hit inicial e conclusão do estudo realizado por Martinho, sobre a relação estrutura e atividade contra <i>T. cruzi</i>	17
Esquema 2 – Conclusão do estudo realizado por Hercos, sobre a relação estrutura e atividade contra <i>L. infantum</i>	18
Esquema 3 – Modificações realizadas e sua atividade.....	19
Esquema 4- Análise retrossintética para síntese dos compostos almejados nesse trabalho.....	19
Esquema 5 – Rota sintética para obtenção dos derivados de sulfonilpiperazinas com modificações no fragmento benzenossulfonila.....	20
Esquema 6 – Proposta de mecanismo para a síntese do intermediário 1.....	21
Esquema 7 – Proposta de mecanismo para a síntese do intermediário 2	22
Esquema 8 – Proposta de mecanismo para a síntese do intermediário 3.....	23
Esquema 9 – Proposta de mecanismo para a síntese dos derivados.....	24
Esquema 10- Síntese do intermediário 1	31
Esquema 11- Síntese do intermediário 2	32
Esquema 12 - Síntese do intermediário 3	32
Esquema 13 - Síntese do derivado 4a	33
Esquema 14 - Síntese do derivado 4b	34
Esquema 15 - Síntese do derivado 4c	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Resultados da atividade biológica contra <i>L. infantum</i> dos derivados 4a-c.....	28
---	----

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
1.1 A Leishmaniose	12
1.2 Ciclo De Vida Do <i>L. Infantum</i>	13
1.3 Desenvolvimento De Novos Fármacos	15
2 OBJETIVOS.....	16
2.1 Objetivo Geral	16
2.2 Objetivos Específicos	16
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
3.1 Planejamento e Alterações do Hit.....	17
3.2 Síntese das Modificações do Fragmento Benzenossulfonila.....	20
3.3 Resultados Biológicos e Estudo da Atividade Contra <i>L. Infantum</i> dos Derivados com Modificações Realizadas no Fragmento Benzenossulfonila.	27
4 CONCLUSÃO.....	29
5 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	30
5.1 Reagentes e Solventes	30
5.2 Método Cromatográfico (CCD).....	30
5.3 Métodos Analíticos	30
a) Espectroscopia de Ressonância Magnética	30
5.3 Procedimento Experimental de Síntese	31
a) Síntese do Intermediário 1	31
b) Síntese do Intermediário 2	32
c) Síntese do Intermediário 3.....	32
d) Síntese do Derivado 4a.....	33
e) Síntese do Derivado 4b.....	34
f) Síntese do Derivado 4c	34
5.3 Procedimento Experimental Teste Biológico	35
6 REFERÊNCIAS	36

1 INTRODUÇÃO

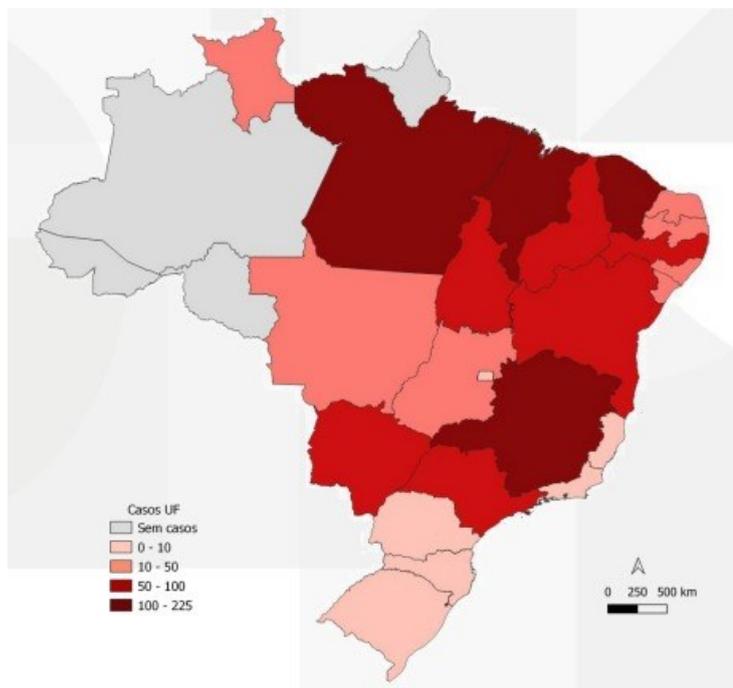
Doenças Tropicais Negligenciadas (DNT's) são um grupo de doenças que afetam mais de 1,7 bilhões de pessoas, principalmente em comunidades marginalizadas e mais pobres, onde cuidados com a qualidade da água, saneamento e o acesso a saúde são inadequados. As DNT's são causadas por uma variedade de patógenos que incluem vírus, bactérias, toxinas e fungos. Dengue, Raiva, Hanseníase, Leishmaniose e doença de Chagas são algumas das mais de 20 patologias presentes nesse grupo, estas são consideradas negligenciadas devido a exclusão social ligada a população afetada, ao baixo financiamento recebido nas áreas de pesquisa, produção e controle por parte dos órgãos governamentais, e ao desinteresse por parte da indústria farmacêutica visto que não há um retorno financeiro adequado ao investimento necessário em pesquisa e desenvolvimento. (OMS,2023)

A Leishmaniose visceral, forma mais grave da doença, é causada pelo protozoário flagelado *Leishmania infantum* (*L. infantum*); é caracterizada pela perda de peso, aumento do fígado, anemia e pode ser fatal em mais de 95% dos casos se não tratada. (OMS, 2023)

1.1 A Leishmaniose

A leishmaniose visceral humana (LVH), também conhecida como calazar, é uma doença tropical negligenciada causada pelo protozoário flagelado *L. infantum*, sendo uma das maiores doenças parasitárias endêmica em 80 países, sendo 13 países localizados na região das Américas. Índia, Sudão, Brasil e Quênia são responsáveis por 68% dos casos mundiais de LVH (OPS/OMS, 2020). Os registros da doença em território brasileiro são maiores nos estados de Minas Gerais, Maranhão, Pará e Ceará (Figura 1) (SVSA/MS 2022). Nos anos entre 2001 e 2021 foram registrados um total de 69665 novos casos com uma taxa de letalidade de 8%, sendo o maior registro em comparação a outros continentes. Ela afeta principalmente a população mais pobre e está relacionada a condições precárias de vida, como indivíduos com imunidade comprometida e desnutrição. (BENCHIMOL, 2019; MCNAMARA, 2022; MINISTERIO DA SAÚDE, 2022)

Figura 1 – Número de novos casos de leishmaniose visceral por UF registrados em 2022 no Brasil.



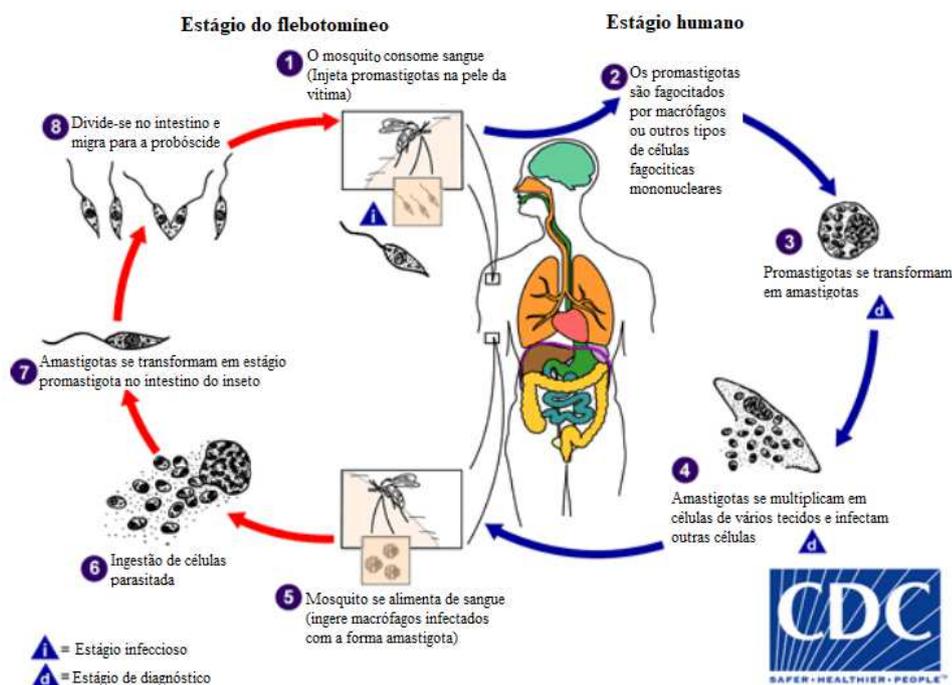
Fonte: SVSA/MS 2022 - Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente

1.2 Ciclo De Vida Do *L. Infantum*

A transmissão da doença ocorre onde há uma maior incidência dos mosquitos do gênero *Flebotomíneos*. O *Lutzomyia longipalpis* (mosquito-palha) é o principal vetor de transmissão da *L. infantum* no Brasil. (BOECHAT, 2015; SOUSA, 2019).

O ciclo da *L. infantum* se inicia com a picada da fêmea do mosquito-palha, durante o repasto sanguíneo a tromba infectada com a forma promastigota (estágio infeccioso) do protozoário penetra na pele da vítima e são fagocitados por macrófagos. No intestino do mosquito, os macrófagos se rompem, ocorrendo a liberação das formas amastigotas, multiplicando-se assim por divisão binária e se transformam na forma promastigota (forma flagelada). Por sua vez, as formas promastigotas também se multiplicam por divisão binária até se transformarem nas formas promastigotas metacíclicas (forma infectante), completando o ciclo do parasita no vetor. (CDC, 2023)

No estágio humano após a picada e repasto sanguíneo, a forma promastigota é fagocitada por macrófagos e outras células fagocíticas mononucleares, a mesma se transforma na forma amastigota e se multiplica por divisão simples, a forma amastigota continua infectando novos macrófagos concluindo o ciclo de infecção pela *L. infantum* no corpo humano (CDC, 2023).

Figura 2- Ciclo de vida da *Leishmania infantum*

Fonte: CDC adaptado por Hercos et al, 2023.

A transmissão da leishmaniose pode ocorrer também pela transfusão de sangue, transmissão venérea (durante o ato sexual) e congênita (transmitida da mãe para o feto pela placenta durante a gestação) (BOECHAT, 2015). As vítimas infectadas apresentam sintomas como febre, tosse, dor abdominal, anemia, perda de peso, diarreia, fraqueza, aumento do fígado e do baço.

No ano de 2019, foi publicado um boletim informativo para identificação do mosquito palha (Figura 3), é de extrema importância que a população realize poda de árvores regularmente a fim de manter o ambiente bem iluminado e que mantenham os quintais limpos e livres de matéria orgânica, visto que é nesse local que a fêmea do inseto deposita seus ovos, evitando assim a presença do mosquito.

Figura 3 – Boletim informativo mosquito palha.



Fonte: Instituto Oswaldo Cruz.

1.3 Desenvolvimento De Novos Fármacos

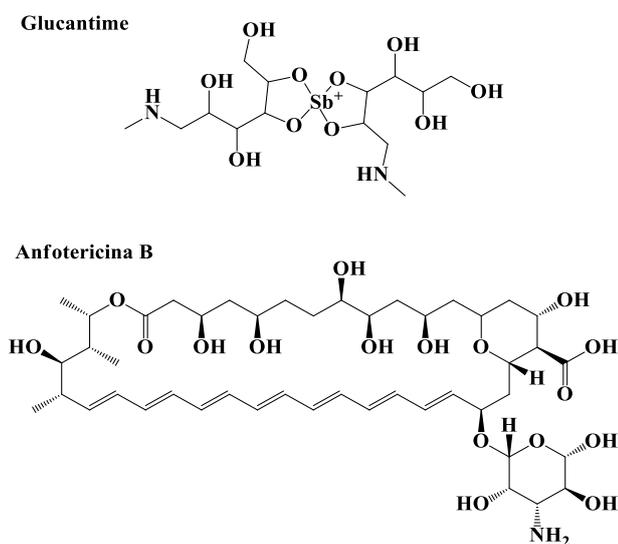
Para todas as formas de leishmaniose, o tratamento se faz por meio do medicamento Glucantime, produzido pela Aventis. O Glucantime é um medicamento injetável antiparasitário, que contém antimoniato de meglumina na sua composição, atuando na inibição de enzimas glicolíticas e na beta oxidação de ácidos graxos (FIOCRUZ, 2023). O tratamento é feito durante 20 dias consecutivos no caso da Leishmaniose visceral e durante 30 dias consecutivos nos casos de Leishmaniose tegumentar. No entanto, esse medicamento apresenta uma alta toxicidade e vários efeitos colaterais que incluem dor nas articulações, náuseas, vômitos, dores musculares, febre, dor de cabeça, diminuição do apetite, dificuldade para respirar, inchaço do rosto, dor na barriga e alterações no exame de sangue, especialmente nos testes de função do fígado. (MOREIRA, 2017).

Como tratamento alternativo, utiliza-se a Anfotericina B, esse medicamento é utilizado para tratamento de infecções sistêmicas por fungos e em formas de leishmanioses graves, refratárias ao tratamento pelos antimoniais. Como as membranas das *Leishmanias* contêm ergosterol, o medicamento prejudica a permeabilidade celular dos protozoários, com perda de

pequenos cátions, principalmente K^+ , causando assim morte celular do parasita. (HERCOS, 2023).

No entanto, a anfotericina B é um medicamento, que requer cuidados especiais quando empregada no tratamento, pois apresenta uma alta toxicidade. Seu uso é limitado pelos efeitos adversos, como anafilaxia, trombocitopenia, dor generalizada, convulsões, calafrio, febre, flebite, anemia, anorexia, diminuição da função tubular renal e hipocalcemia em um terço dos doentes. (ORDÓNEZ-GUTIÉRREZ, 2007).

Figura 4 - Representação estrutural dos fármacos utilizados para tratamento da LVH.



Fonte: Autor.

Diante dessas considerações, vemos a necessidade do estudo e busca por novos fármacos eficazes contra a leishmaniose visceral humana, menos tóxicos para o corpo humano e acessível a toda a população.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Sintetizar e avaliar a atividade biológica de uma classe de sulfonilpiperazinas contra o protozoário *L. infantum*, agente causador da Leishmaniose.

2.2 Objetivos Específicos

- Sintetizar e caracterizar três compostos da classe de sulfonilpiperazinas;

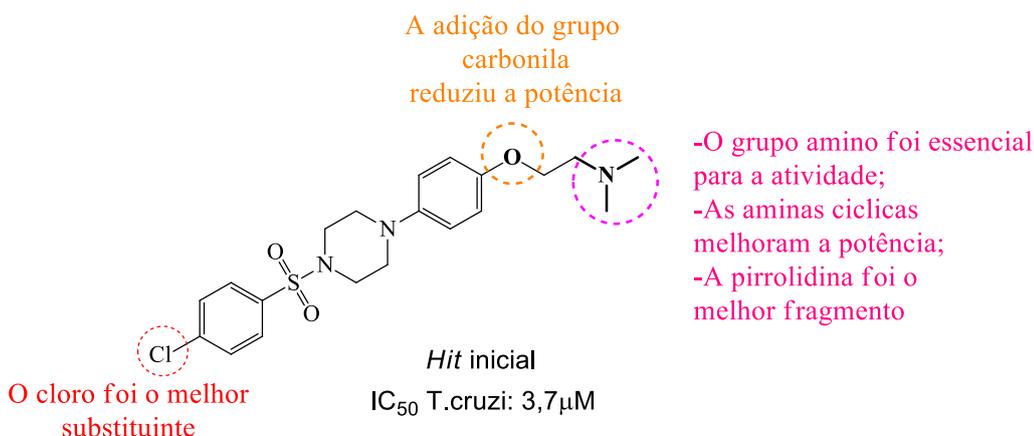
- b) Determinar a atividade *in-vitro* dos compostos sintetizados contra *L. infantum*;
 c) Avaliar a relação estrutura e atividade biológica.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Planejamento e Alterações do Hit

No trabalho de MARTINHO et al, publicado em 2022, foi apresentado um *hit* inicial com potencial atividade contra *T. cruzi*, protozoário causador da doença de Chagas; nesse trabalho foram realizadas alterações nos fragmentos do *hit* (esquema 1) das quais se destacam a adição de uma carbonila entre o grupo piridina e o grupo amino (destacado em laranja no esquema 1), e alterações nos substituintes do anel aromático da sulfonila (destacado em vermelho no esquema 1); além de outras alterações.

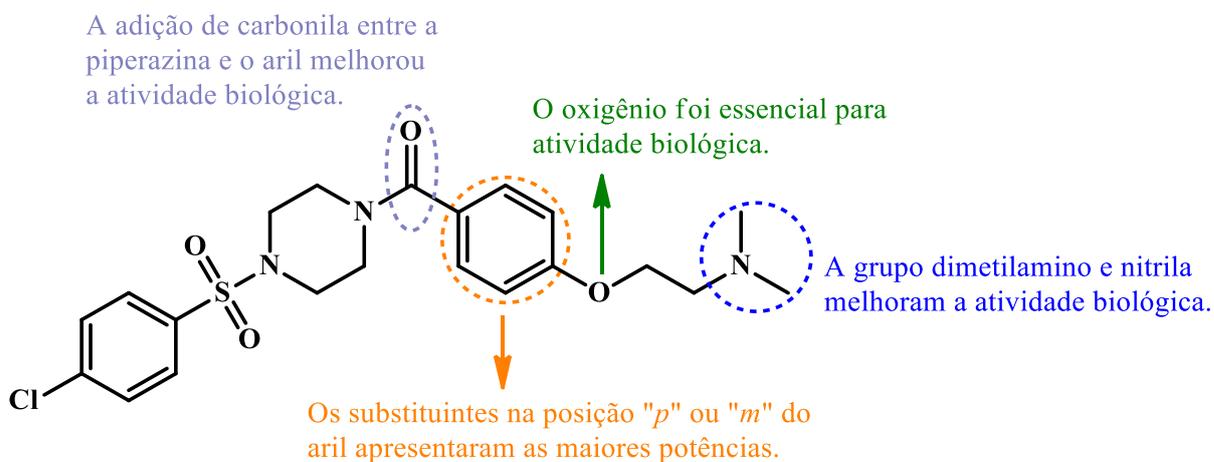
Esquema 1 – *Hit* inicial e conclusão do estudo realizado por Martinho, sobre a relação estrutura e atividade contra *T. cruzi*.



Fonte: MARTINHO *et al*, 2022, adaptado

O trabalho de dissertação realizado por Hercos, no ano de 2023, deu continuidade as modificações do *hit*; o mesmo realizou modificações em diferentes fragmentos, inserindo uma carbonila entre a piperazina e o anel aromático do fragmento amino-arila (Esquema 2). Os derivados sintetizados por Hercos foram testados contra *T. cruzi* e *L. infantum*.

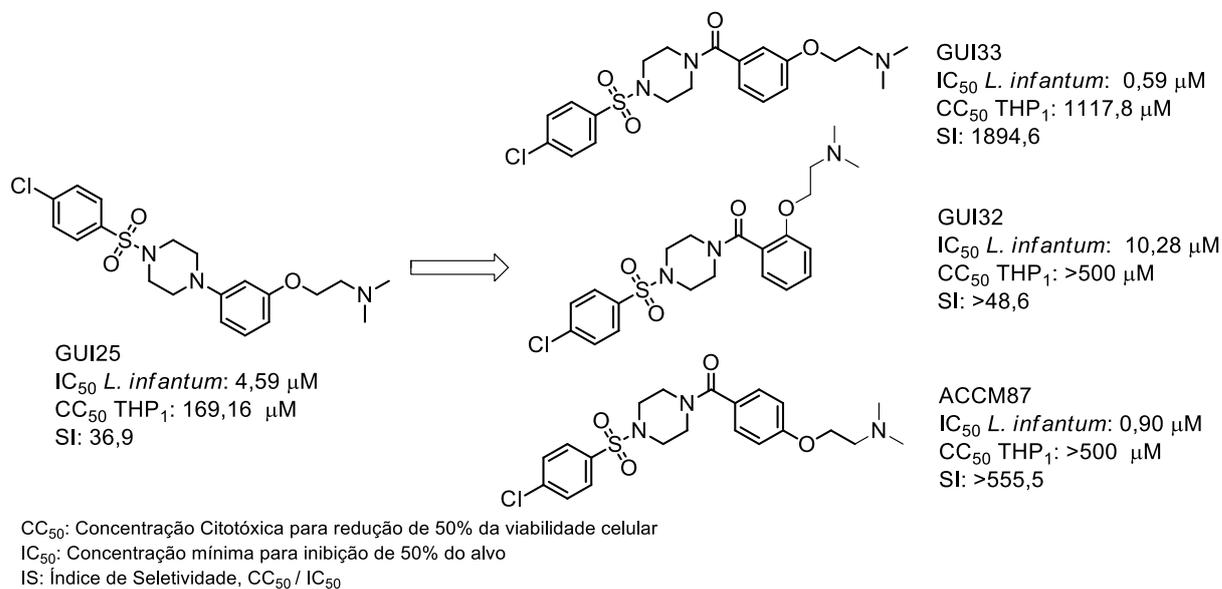
Esquema 2 – Conclusão do estudo realizado por Hercos, sobre a relação estrutura e atividade contra *L. infantum*.



Fonte: HERCOS *et al*, 2023.

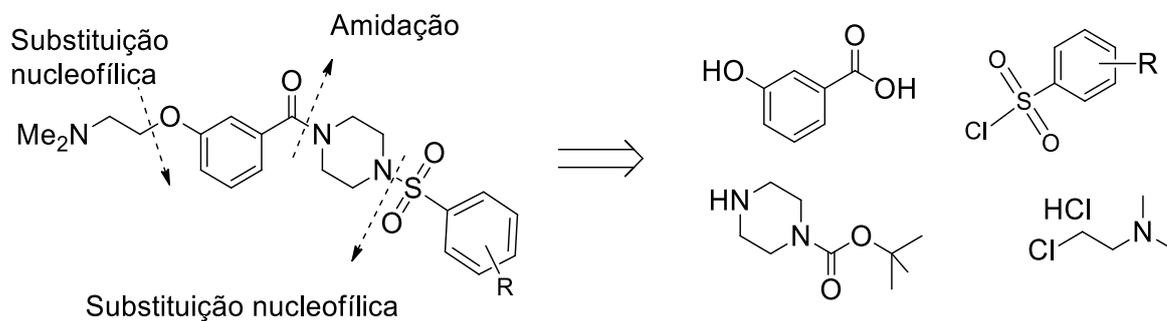
Com os resultados obtidos por Hercos, foi observado que a carbonila inserida entre o anel aromático e o nitrogênio da piperazina melhora consideravelmente a atividade biológica contra o *L. infantum*, passando de $IC_{50} = 4,59 \mu M$ (composto GUI25) para $IC_{50} = 0,59 \mu M$ (composto GUI33) (Esquema 3). Observou-se também que a posição relativa entre o oxigênio e o nitrogênio no anel aromático influenciam na atividade biológica, sendo que a relação *meta* apresentou melhor atividade frente as outras posições (*orto* ou *para*), apresentando um $IC_{50} = 0,59 \mu M$, enquanto para a posição *para* apresentou $IC_{50} = 0,90 \mu M$ (composto ACCM87) e a posição *orto* $IC_{50} = 10,28 \mu M$ (composto GUI32) (Esquema 3). A partir dessas considerações, foi planejado a síntese e avaliação anti-*L. infantum* de derivados do composto GUI33 a fim de estudar alterações no fragmento benzenossulfonila, mantendo a carbonila do fragmento aminoarila e a relação *meta* entre o oxigênio e o nitrogênio do anel aromático. O esquema 4 apresenta a análise retrosintética para a síntese dos compostos planejados.

Esquema 3 – Modificações realizadas e sua atividade.



Fonte: Autor.

Esquema 4- Análise retrossintética para síntese dos compostos almejados neste trabalho.



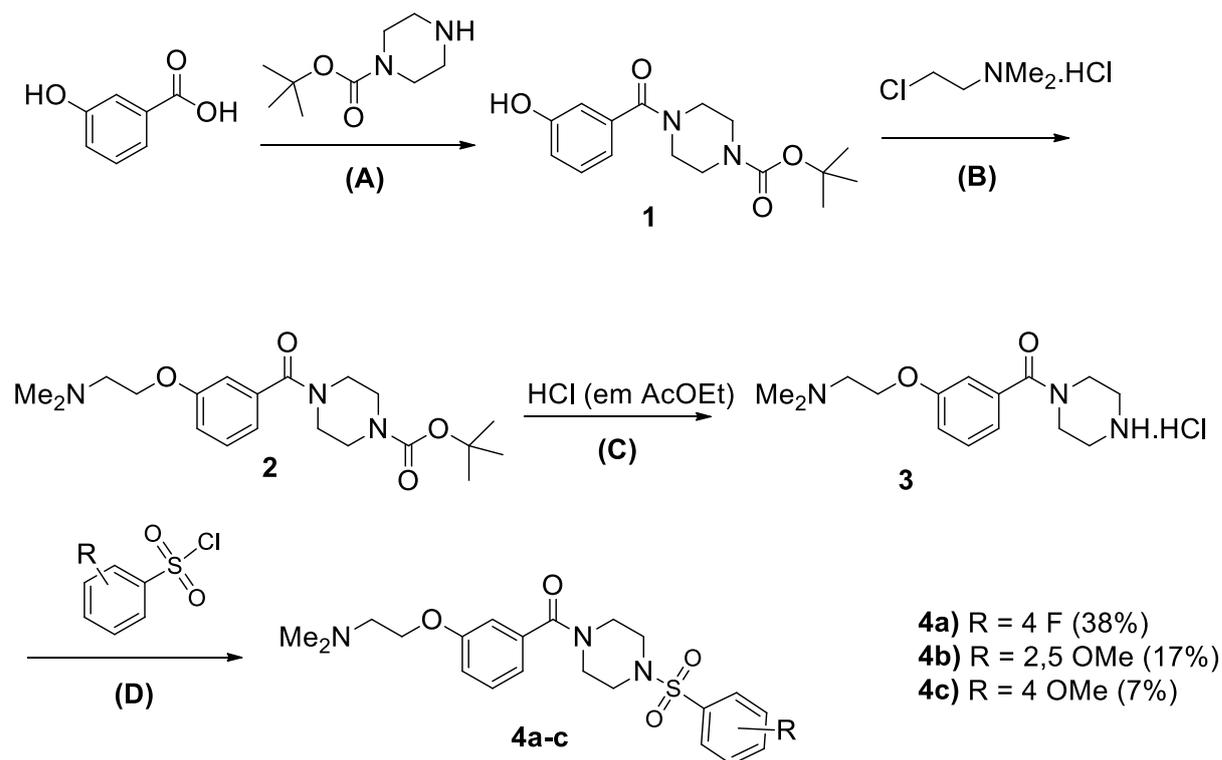
Fonte: Autor.

A análise retrossintética da estrutura dos compostos almejados se inicia com a desconexão da ligação do enxofre como nitrogênio da piperazina, seguido da desconexão da cadeia 2-dimetilamonoetil com o oxigênio ligado ao anel aromático, e por fim a desconexão da carbonila com o nitrogênio da piperazina. Obtendo assim os reagentes de partida destacados no esquema 4 para a síntese dos derivados almejados.

3.2 Síntese das Modificações do Fragmento Benzenossulfonila.

A rota sintética (esquema 5) se iniciou com uma amidação do ácido *m*-hidroxibenzoico com *N*-*boc* piperazina, utilizando EDC como agente ativante da carbonila do ácido, HOBT como catalisador e DMF como solvente, produzindo o composto **1**.

Esquema 5 – Rota sintética para obtenção dos derivados de sulfonilpiperazinas com modificações no fragmento benzenossulfonila

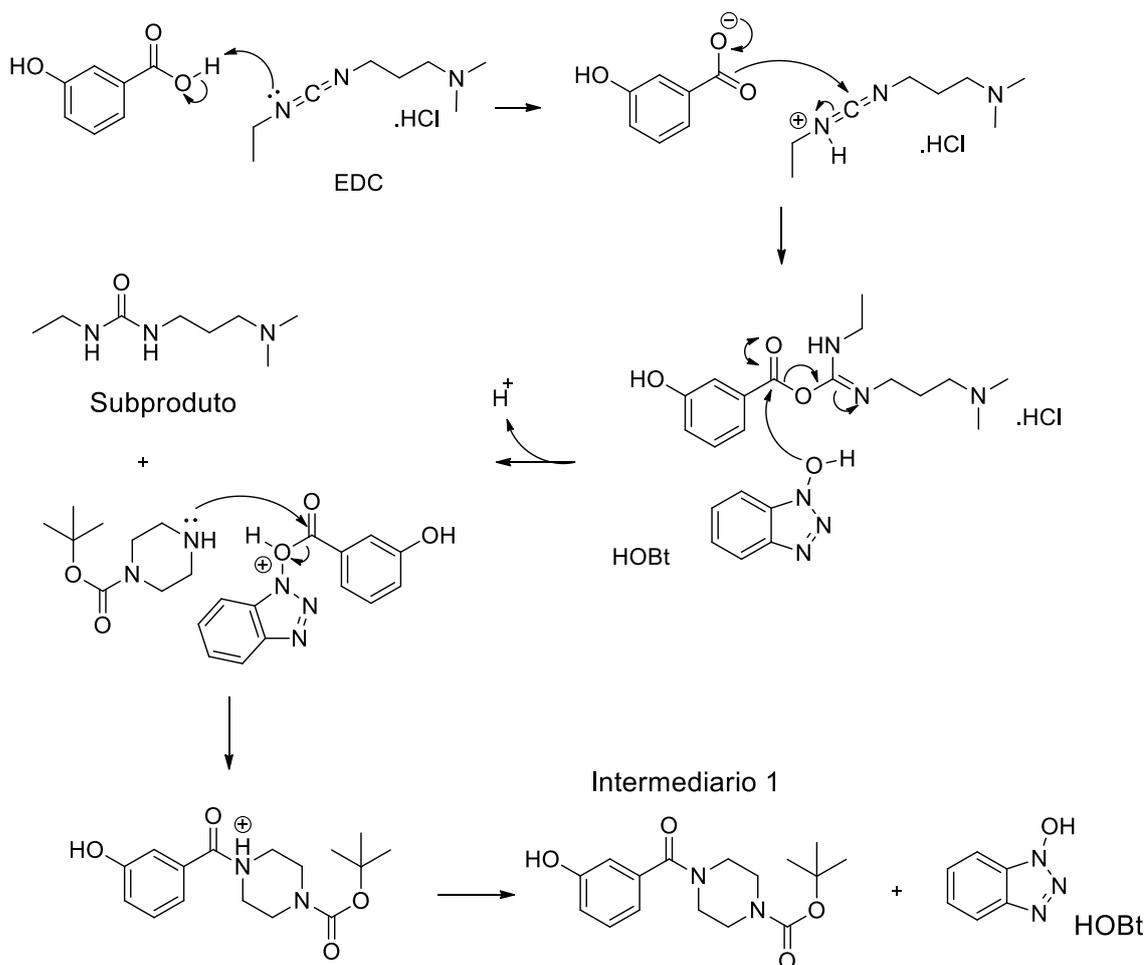


Fonte. Autor¹

¹**(A)**: DMF, EDC, HOBT, t.a. 45h, Rendimento 61%. **(B)**: TBut⁻Na⁺, DMF, 60°C, 120h, Rendimento 90%. **(C)**: HCl 2M em AcOEt, t.a. 24h, Rendimento 100%. **(D)**: DCM, Et₃N, t.a, 24 – 48h.

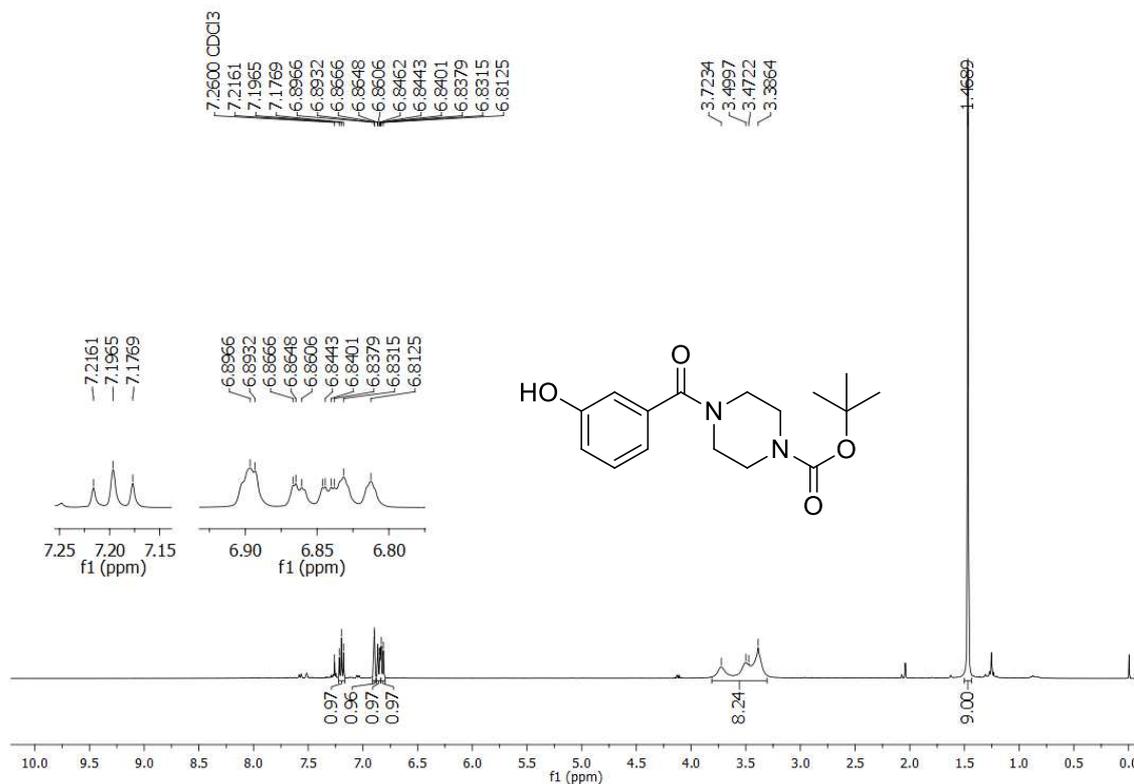
A proposta do mecanismo para a primeira etapa utilizando EDC como ativador e HOBT como catalisador (esquema 6), se inicia com a desprotonação do ácido carboxílico pelo EDC, em seguida, o carboxilato irá atacar o carbono eletrofílico do EDC, formando um intermediário. A hidroxila do catalisador, HOBT, irá fazer um ataque nucleofílico ao carbono eletrofílico do intermediário, liberando uma ureia como subproduto e formando um éster ativado, que irá sofrer então um ataque da amina (*N*-*boc* piperazina); após isso irá ocorrer a transferência de prótons, a amida será formada.

Esquema 6 – Proposta de mecanismo para síntese do intermediário 1



Fonte: Autor

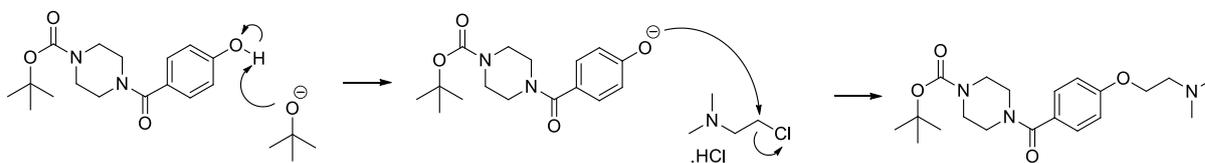
Na figura 5 está apresentado o espectro de RMN de ^1H do intermediário **1**. Nesse foi observado a presença de um tripleto (7,19 ppm) e três multipletos (6,90-6,88 ppm, 6,88-6,84 ppm, 6,83-6,81 ppm) referente aos quatro hidrogênios do anel aromático. Também houve a presença de um multipletto (3,72-3,38 ppm) referente aos oito hidrogênios da piperazina e um singletto (1,46 ppm) referente as três metilas do grupo protetor boc.

Figura 5 – Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) do intermediário 1

Fonte: Autor

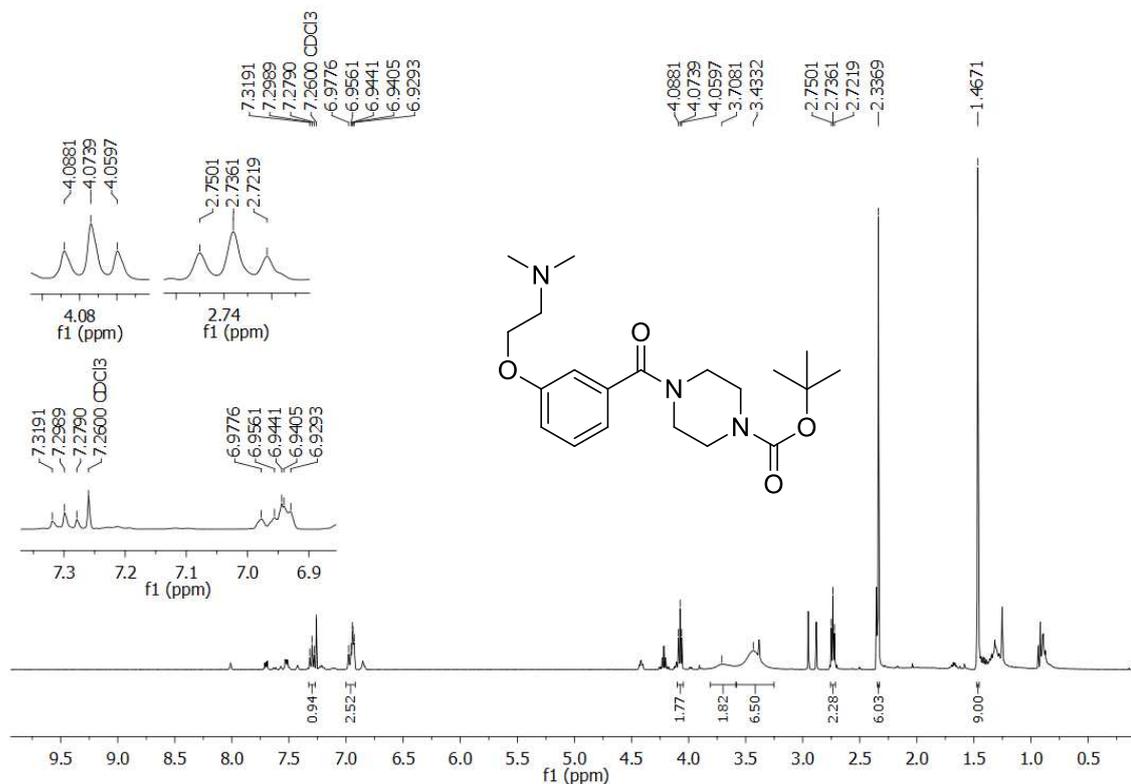
Na sequência foi realizada uma substituição nucleofílica na hidroxila do composto **1** pelo cloridrato de cloreto de 2-dimetilaminoetil, utilizando terc-butóxido de sódio como base e DMF como solvente, produzindo o composto **2**. O mecanismo se inicia com a desprotonação da hidroxila pela base, seguido do ataque do oxigênio ao carbono liberando o cloro por ser um bom grupo abandonador, obtendo assim o intermediário **2**.

Esquema 7 – Proposta de mecanismo para síntese do intermediário 2



Fonte: Autor

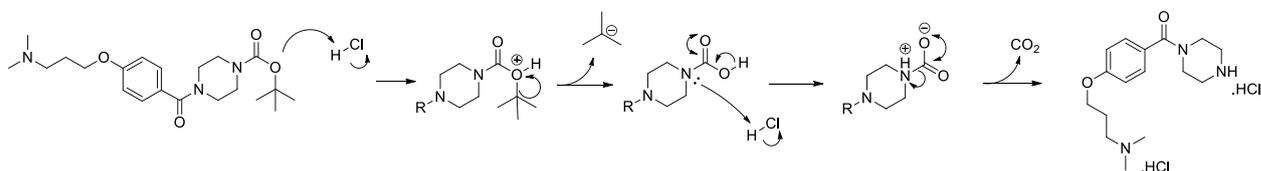
Na figura 6 está representado o espectro de RMN de ^1H do intermediário **2**, onde podemos observar a presença de um triplete (4,07 ppm) referente aos dois hidrogênios ligados ao oxigênio vizinho ao anel aromático, podemos observar também a presença de um triplete (2,74 ppm) referente aos dois hidrogênios do carbono ligado ao grupo amina. Em 2,34 ppm podemos observar um sinal referente aos 6 hidrogênios do grupo dimetilamino, evidenciando assim a presença do intermediário almejado.

Figura 6 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do intermediário 2

Fonte: Autor

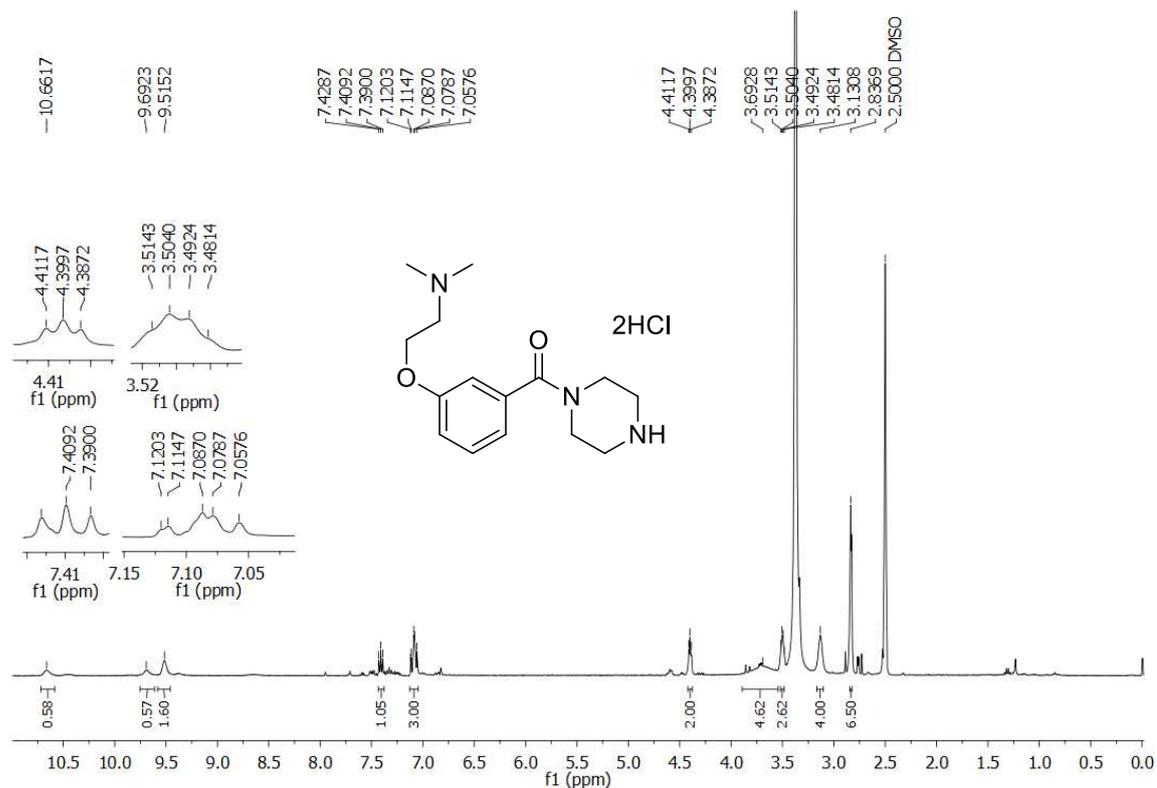
Posteriormente foi realizada a retirada do grupo protetor boc utilizando HCl 2M em acetato de etila. O mecanismo começa com a protonação do oxigênio pelo ácido, que resulta na desconexão da ligação entre o oxigênio e o isobutano; em seguida o par de elétrons do nitrogênio ataca o hidrogênio ácido ficando positivo, o carboxilato ao restituir a ligação pi rompe a ligação entre a carbonila e a piperazina, liberando CO_2 e formando o intermediário 3.

Esquema 8 – Proposta de mecanismo para síntese do intermediário 3



Fonte: Autor

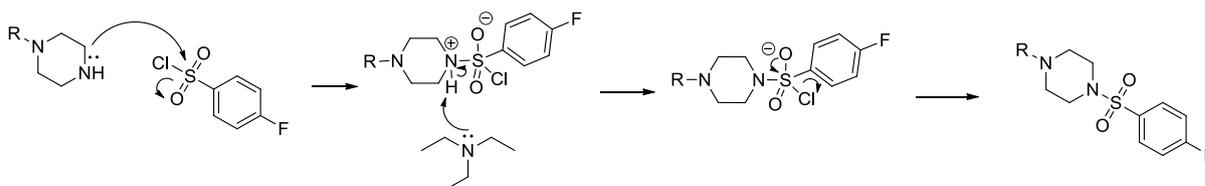
Na figura 7 é apresentado o RMN de ^1H do intermediário 3, o qual foi obtido após clivagem do grupo protetor boc. A presença do intermediário almejado foi determinada pela ausência do sinal referente as três metilas do grupo boc e pelos sinais referentes às ligações com o HCl em 10,6 ppm, 9,69 ppm e 9,51 ppm.

Figura 7 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO) do intermediário 3

Fonte: Autor

Com a piperazina desprotegida foi realizada uma reação de substituição na sulfonila entre o composto **3** com o cloreto de benzenossulfonil substituído, utilizando trietilamina como base e diclorometano como solvente, obtendo assim os derivados **4a – c**. O mecanismo da reação se inicia com o par de elétrons do nitrogênio da piperazina realizando um ataque a sulfonila, formando um intermediário com o nitrogênio carregado positivamente, posteriormente ocorre a desprotonação pela trietilamina. Por fim, a ligação dupla da sulfonila é reestabelecida removendo o cloro, formando o derivado de benzenossulfonila e o cloreto de trietilamonio como subproduto.

Esquema 9 – Proposta de mecanismo para síntese do derivado



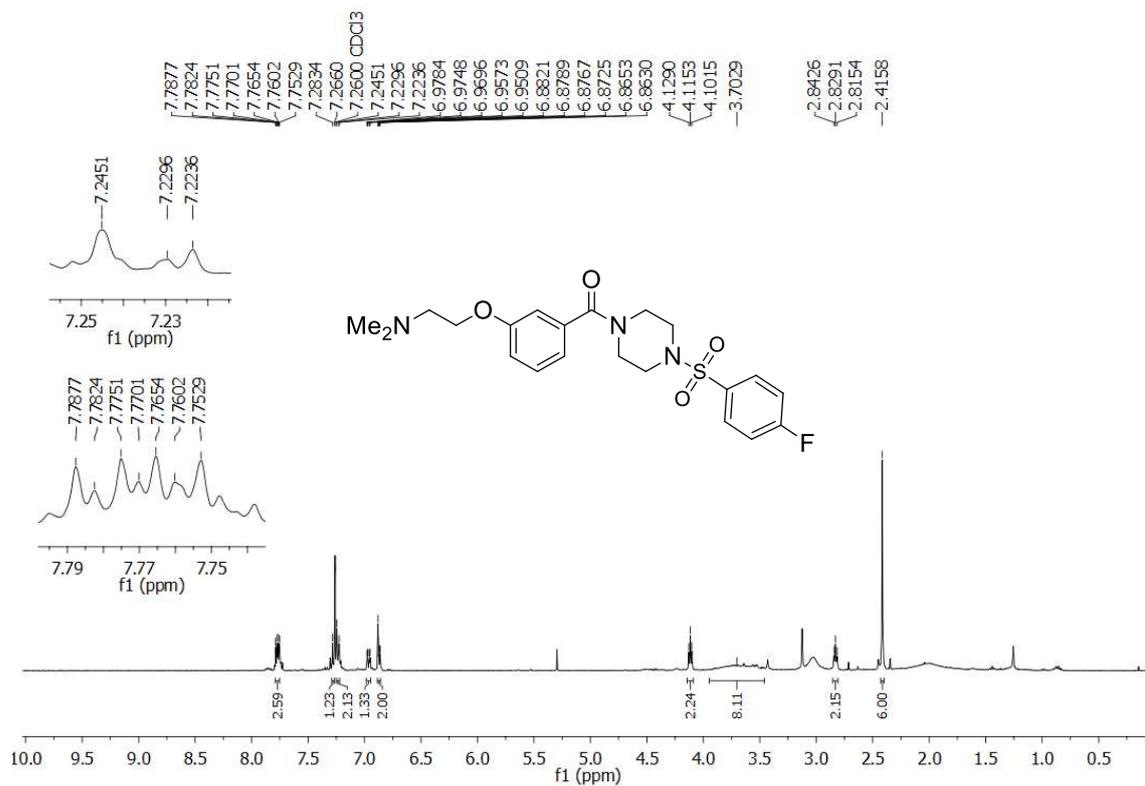
Fonte: Autor

Para o estudo de diferentes substituintes no fragmento benzenosulfonila foram sintetizados três derivados a fim de relacionar a atividade biológica e estrutura química; o derivado **4a** foi sintetizado com a presença do flúor na posição *para*, sendo ele um átomo mais eletronegativo que o cloro e criando a possibilidade de realizar ligação de hidrogênio; a figura 8 apresenta o RMN de ^1H do derivado **4a** onde podemos observar a presença dos sinais referentes aos 4 hidrogênios do anel aromático do fragmento benzenosulfonila, sendo eles um multiplete entre 7,78 – 7,75 ppm, e outro multiplete entre 7,24 ppm e 7,22 ppm.

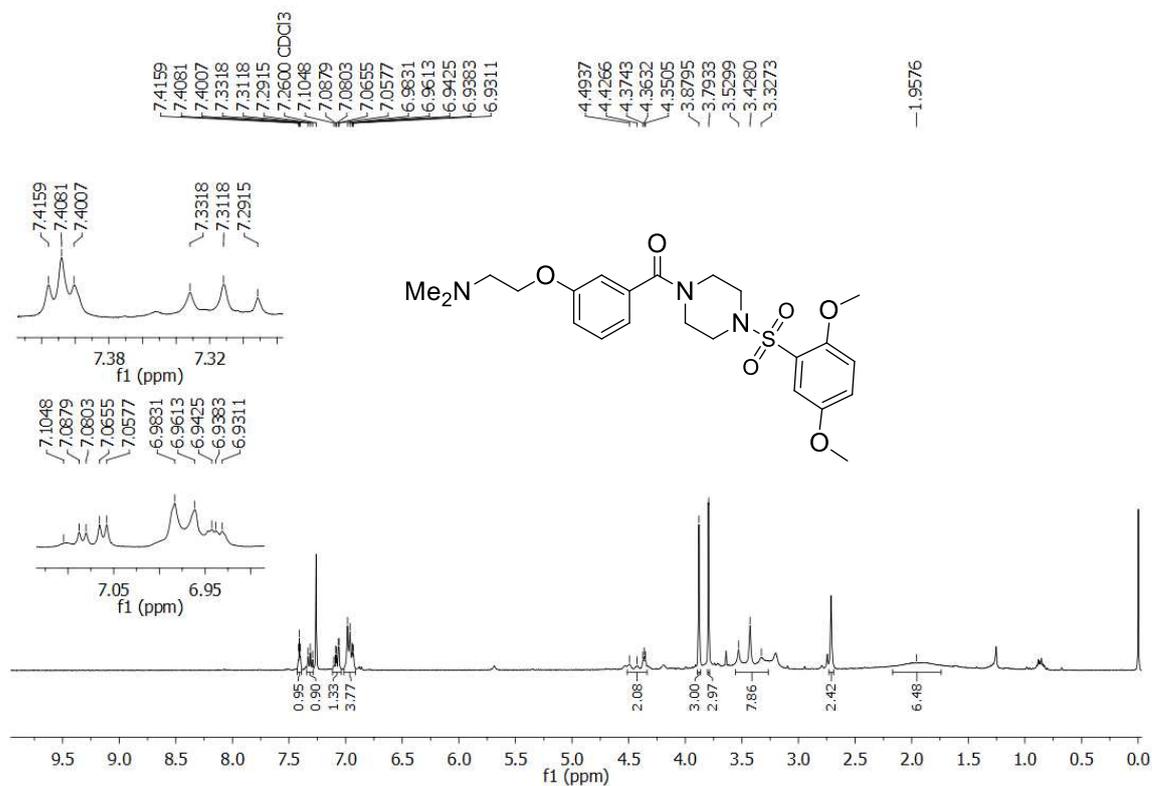
O derivado **4b** foi sintetizado a fim de avaliar a presença de dois grupos doadores em diferentes posições no anel aromático do fragmento benzenosulfonila, aumentando a densidade eletrônica do anel e mantendo a possibilidade de ocorrer ligações de hidrogênio. Na figura 9 está representado o espectro de RMN de ^1H do derivado **4b**, onde podemos observar os sinais referentes as metoxilas, sendo eles um singleto em 3,87 ppm referente aos três hidrogênios da metoxila da posição *orto* e um singleto em 3,81 ppm referente aos três hidrogênios da metoxila da posição *meta*.

O derivado **4c** foi sintetizado a fim de avaliar a presença de um grupo doador na posição ativa *para*, mantendo a possibilidade de realizar ligações de hidrogênio e aumentando a densidade eletrônica do anel aromático. A figura 10 apresenta o espectro de RMN de ^1H do derivado **4c**, onde observamos a presença do sinal dos três hidrogênios da metoxila em 3,89 ppm, confirmando a presença do derivado almejado.

Os espectros de RMN ^{13}C dos derivados **4a – c** estão representados em anexo.

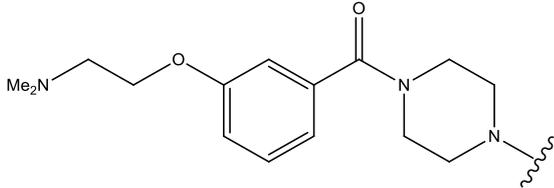
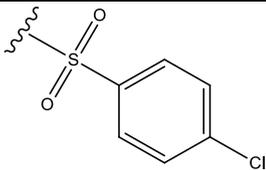
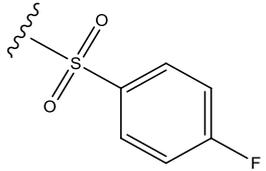
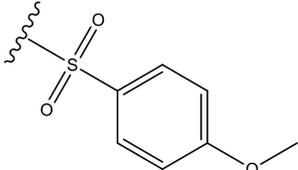
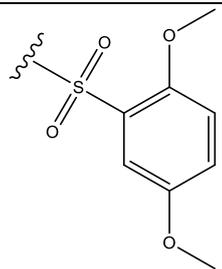
Figura 8 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do derivado 4a

Fonte: Autor

Figura 9 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do derivado 4b

Fonte: Autor

Tabela 1: Resultados da atividade biológica contra *L. infantum* dos derivados 4a-c.

		
Código	Estrutura	IC ₅₀ ¹
GUI33		0,59 ± 0.4 μM
4a		8,59 ± 0.96 μM
4c		4,96 ± 1.70 μM
4b		20,47 ± 1.57 μM
Anfotericina B	-	0,25 ± 0,0 μM

¹Concentração do composto que reduz em 50% o crescimento parasitário.

Os ensaios biológicos realizados com o GUI33(sintetizado por Hercos et al (2023)) contra *L. infantum* resultaram em uma significativa atividade biológica (IC₅₀ = 0,59 μM) o que motivou o estudo de novas modificações a fim de avaliar diferentes substituintes no grupo benzenossulfonila. O resultado obtido do análogo **4a** contra *L. infantum* mostrou uma diminuição da potência em relação ao GUI33 (**4a**: IC₅₀= 8,59 μM). A diferença da estrutura química se dá pela troca do cloro pelo flúor, um átomo mais eletronegativo; esse resultado mostra que o cloro é um melhor substituinte na posição *para* do anel aromático.

O análogo **4c** foi sintetizado a fim de avaliar a presença de um grupo doador de elétrons ligado na posição *para* do anel aromático. Com os resultados obtidos observamos uma diminuição na atividade (**4c**: IC₅₀= 4,96 μM), a inserção da metoxila na posição *para* do anel diminui a atividade, porém em comparação ao derivado **4a** apresentou uma melhor potência,

esse resultado demonstra que é de interesse testar outros substituintes doadores ligados ao anel aromático, visto que é preferível grupos doadores a grupos muito eletronegativos para esta posição.

O resultado biológico do análogo **4b**, apresentou uma perda significativa da atividade biológica contra a *L. infantum* (4b: IC₅₀= 20,47 µM) em comparação com o GUI33 (IC₅₀ = 0,59 µM), a modificação realizada nesse derivado foi a inserção de duas metoxilas nas posições 2 e 5 do anel aromático respectivamente. Podemos observar que a presença dos grupos doadores em diferentes posições resultou na perda de atividade, evidenciando que a posição *para* do substituinte parece ser essencial para a atividade nesse fragmento, bem como a presença de dois substituintes no anel aromático do fragmento benzenossulfonila não é interessante para a atividade.

Portanto podemos concluir a partir do estudo entre a relação estrutura e atividade dos derivados sintetizados nesse trabalho que das modificações realizadas, a melhor atividade foi a do derivado **4c**, o qual apresentou um grupo doador na posição *para*. Apesar de ter levado a uma redução de potência, quando comparado com o GUI33, o composto **4c** apresenta uma atividade biológica relevante, visto que IC₅₀ abaixo de 5 µM contra o *L. infantum* é uma potência recomendada para compostos candidatos a iniciarem os estudos em modelos *in vivo*. (KATSUNO *et al*, 2015.)

Estudos adicionais de citotoxicidade e farmacocinética precisam ser realizados com o composto **4c** para avaliar o seu potencial como um candidato a estudo *in vivo* contra a leishmaniose.

4 CONCLUSÃO

Nesse trabalho foi apresentado o planejamento, síntese, caracterização e avaliação biológica das modificações realizadas no fragmento benzenossulfonila do composto GUI33, potente contra *L. infantum*, obtendo três derivados. O trabalho partiu dos resultados obtidos por Hercos mantendo a posição relativa entre o oxigênio e o nitrogênio do anel aromático com melhor atividade (posição *meta*) e mantendo a carbonila entre o anel aromático e o nitrogênio da piperazina, realizando assim modificações nos substituintes ligados ao anel aromático do fragmento benzenossulfonila bem como sua posição relativa.

Das modificações realizadas foram sintetizados três derivados, sendo eles obtidos a partir de uma reação de amidação do ácido m-hidroxibenzoico com N-boc piperazina, obtendo o intermediário **1**, seguido de uma substituição nucleofílica pelo cloridrato de cloreto de 2-dimetilaminoetil, gerando o intermediário **2**, posteriormente foi realizada a clivagem do grupo

boc deste intermediário. Com a piperazina desprotegida foi realizada uma série de reações de substituição nucleofílica utilizando um cloreto de benzenossulfonil substituído, a fim de obter os derivados almejados **4a-c**.

Para todos os derivados obtidos houve uma diminuição na atividade biológica, sendo o derivado **4b** o único a perder significativamente a atividade (**4b**: $IC_{50} = 20,47 \mu M$). Realizando o estudo da relação estrutura e atividade, conclui-se que a presença de um grupo doador de elétrons como único substituinte na posição *para* do anel aromático apresentou uma melhor atividade que a presença de um grupo fortemente retirador de elétrons como o flúor (**4c**: $IC_{50} = 4,96 \mu M$, **4a**: $IC_{50} = 8,59 \mu M$). A atividade do derivado **4c** é relevante para iniciar o estudo de citotoxicidade e farmacocinética, com interesse em realizar um estudo *in vivo*, visto que um IC_{50} abaixo de $5 \mu M$ é o recomendado para esse tipo de avaliação.

Desta forma, este trabalho contribuiu para o estudo da influência de grupos doadores e retiradores no fragmento estudado, colocando como próximo passo a síntese e avaliação de outros grupos doadores de elétrons na posição *para* do anel aromático, assim como o estudo da citotoxicidade e farmacocinética para o derivado **4c**.

5 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

5.1 Reagentes e Solventes

As reações foram realizadas com solventes e reagentes comerciais sem purificação prévia. Os solventes dimetilformamida, metanol e diclorometano foram utilizados após destilação dos mesmos.

5.2 Método Cromatográfico (CCD)

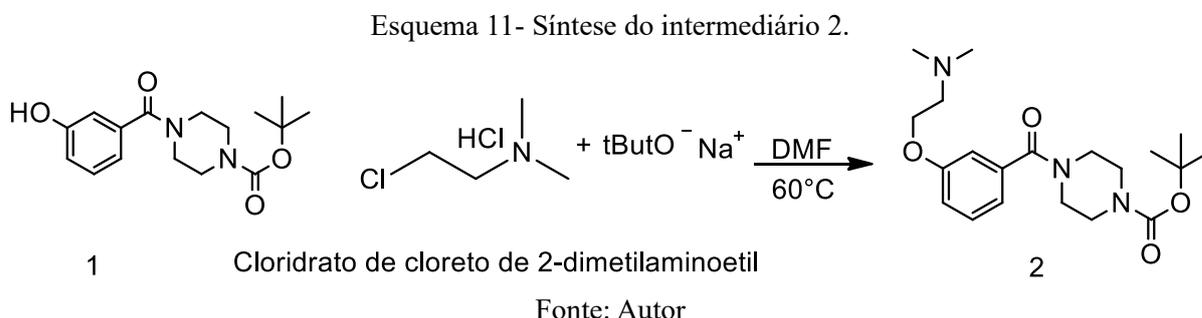
A cromatografia de camada delgada (CCD) foi utilizada para acompanhar o andamento das reações, para realização da mesma foi utilizada placas obtidas a partir de cromatofolhas de alumínio impregnadas com sílica-gel 60 F₂₅₄ (Sigma-Aldrich). A revelação se deu através de luz ultravioleta (254 nm) e/ou atmosfera de iodo.

5.3 Métodos Analíticos

a) Espectroscopia de Ressonância Magnética

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN de 1H) e de carbono 13 (RMN de ^{13}C) foram obtidos por meio do aparelho Bruker Ascend 400 (400 MHz para RMN

b) Síntese do Intermediário 2

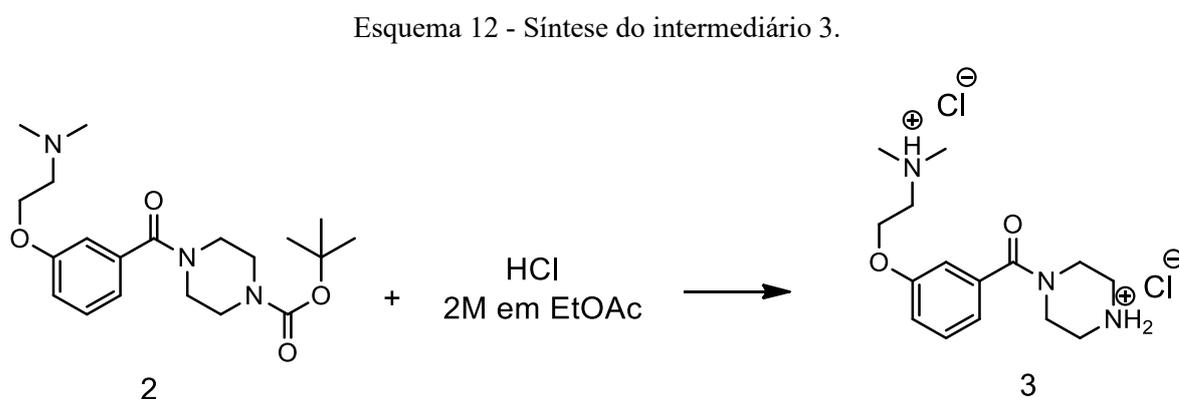


Em um balão contendo 177 mg (0,58 mmol, 1 eq) do intermediário **1** solubilizado em DMF (2 mL), adicionou-se 169 mg (1,15 mmol, 2 eq) de cloridrato de cloreto de 2-dimetilaminoetil e 228 mg (2,31 mmol, 4.1 eq) de terc-butóxido de sódio, a reação foi colocada sob agitação e aquecimento a 60°C durante 120h.

A reação foi acompanhada por CCD (8:2 AcOEt/Hex / 9:1 DCM/MeOH). Foi adicionada 15mL de água destilada gelada, mas não houve formação de precipitado, foi realizada uma extração com acetato de etila (3 x 15mL), a fase orgânica foi secada com sulfato de sódio, filtrada e evaporada a pressão reduzida. Foi realizada CCD (9:1 DCM/MeOH) e o produto foi encaminhada para análise de RMN ¹H.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,29 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,00 – 6,92 (m, 3H), 4,07 (t, *J* = 5,7 Hz, 2H), 3,71 (s, 2H), 3,43 (s, 6H), 2,74 (t, *J* = 5,6 Hz, 2H), 2,34 (s, 6H), 1,47 (s, 9H).

c) Síntese do Intermediário 3



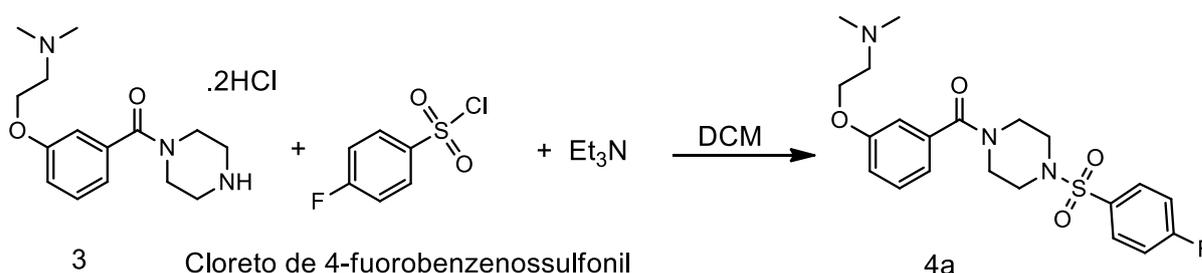
Um balão contendo 169,6 mg (0,45 mmol, 1 eq) do intermediário **2**, foi colocado sob banho de gelo e agitação. Foi adicionado 4,5 mL de HCl 2M, 0,5mL de AcOEt e 0,5mL de metanol e a reação foi colocada sob temperatura ambiente. A reação foi interrompida após 24h;

o HCl restante foi evaporado a pressão reduzida e a reação foi encaminhada para análise de RMN ^1H .

RMN de ^1H (400 MHz, DMSO) δ 10,66 (s, 1H), 9,69 (s, 1H), 9,52 (s, 1H), 7,41 (t, $J = 7,7$ Hz, 1H), 7,13 – 7,05 (m, 3H), 4,40 (t, $J = 4,9$ Hz, 2H), 3,69 (s, 4H), 3,51 – 3,48 (m, 2H), 3,13 (s, 4H), 2,83 (s, 6H).

d) Síntese do Derivado 4a

Esquema 13 - Síntese do do derivado 4a



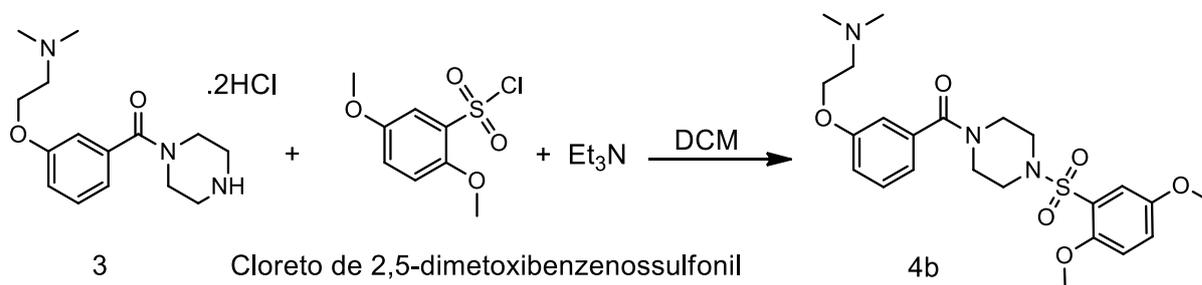
Fonte: Autor

Em um balão contendo 20,9 mg do intermediário 3 (0,057 mmol, 1 eq) foi adicionado 1 mL de DCM, e 13,3 mg (0,068 mmol, 1.2 eq) de cloreto de 4-fluorobenzenossulfonil. A reação foi colocada sob agitação e foi adicionado 26,16 mg (36 μL , 0,285 mmol, 5 eq) de Trietilamina. A reação foi mantida sob agitação por 24h e acompanhada por CCD (8:2 Hex/AcOEt). Foi adicionado 15 mL de água destilada e a solução foi extraída com diclorometano (3 x 10mL). A fase orgânica foi secada com sulfato de sódio, filtrada e evaporada sob pressão reduzida. A mistura foi purificada por coluna cromatográfica (92:8 DCM/MeOH). O produto foi encaminhado para RMN ^1H e ^{13}C .

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7,79 – 7,75 (m, 2H), 7,28 – 7,26 (m, 1H), 7,25 – 7,22 (m, 2H), 6,98 – 6,95 (m, 1H), 6,89 – 6,85 (m, 2H), 4,12 (t, $J = 5,5$ Hz, 2H), 3,70 (s, 8H), 2,83 (t, $J = 5,4$ Hz, 2H), 2,41 (s, 6H).

e) Síntese do Derivado 4b

Esquema 14 - Síntese do derivado 4b.



Fonte: Autor

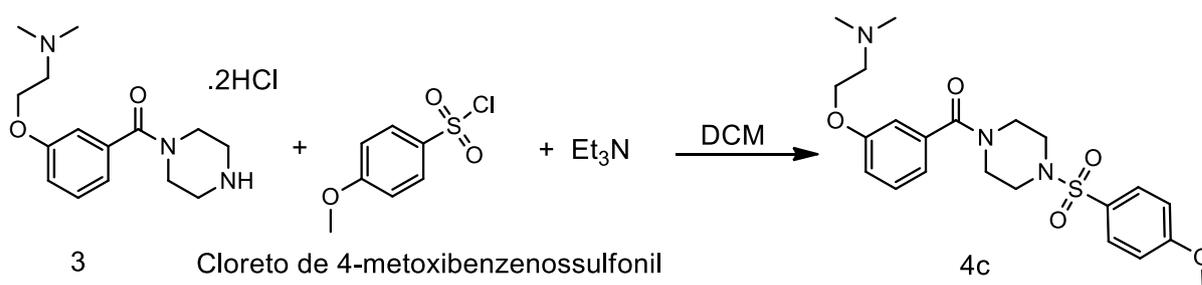
Em um balão contendo 19,7 mg (0,057 mmol, 1 eq) do intermediário 3, foi adicionado 1mL de DCM a fim de solubilizar o composto, posteriormente foi adicionado 12,1 mg de Cloreto de 2,5-dimetoxibenzenossulfonil (0,057 mmol, 1 eq) e por fim foi adicionado 40 μ L (0,285 mmol, 5 eq) de trietilamina.

A reação foi mantida sob agitação por 48h e foi acompanhada por CCD (85:15 DCM/MeOH / 1:1 AcOEt/Hex). Foi adicionado 10 mL de água destilada e a solução foi extraída com diclorometano (2 x 10mL) e posteriormente a fase orgânica com água (2 x 10mL). A fase orgânica foi secada com sulfato de sódio, filtrada e evaporada sob pressão reduzida. A mistura foi purificada por coluna cromatográfica (92:8 DCM/MeOH). Foram obtidas 4 frações, foi realizada CCD (92:8 DCM/MeOH) das frações obtidas, eram 3 impuras e 1 pura com 5 mg de produto. Foi realizado RMN ¹H e ¹³C da fração mais pura.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,40 (t, $J = 3,0$ Hz, 1H), 7,33 (t, 1H), 7,11 – 7,04 (m, 1H), 7,00 – 6,92 (m, 4H), 4,50 – 4,34 (m, 2H), 3,88 (s, 3H), 3,79 (s, 3H), 3,52 – 3,32 (m, 8H), 2,71 (s, 2H), 1,96 (s, 6H).

f) Síntese do Derivado 4c

Esquema 15 - Síntese do derivado 4c



Fonte: Autor

Em um balão contendo 22,7 mg (0,065 mmol, 1 eq) do intermediário 3, foi adicionado 1mL de DCM a fim de solubilizar o composto, posteriormente foi adicionado 13,7 mg de Cloreto de 4-metoxibenzenossulfonil (0,065 mmol, 1 eq) e por fim foi adicionado 45,3 μ L (0,325 mmol, 5 eq) de trietilamina. A reação foi mantida sob agitação por 24h e foi acompanhada por CCD (7:3 AcOEt/Hex). Foi adicionado 10 mL de água destilada e 10mL de diclorometano, a solução foi extraída com água (2 x 10mL). A fase orgânica foi secada com sulfato de sódio, filtrada e evaporada sob pressão reduzida. Foi realizada coluna preparativa (92:8 DCM/MeOH) para purificação. A amostra foi enviada para análise de RMN ^1H e ^{13}C .

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7,69 (m, 1H), 7,68 – 7,66 (m, 1H), 7,29 – 7,27 (m, 1H), 7,04 – 6,99 (m, 2H), 6,98 – 6,93 (m, 1H), 6,88 – 6,84 (m, 2H), 4,10 (t, $J = 5,6$ Hz, 2H), 3,89 (s, 3H), 3,68 – 3,59 (m, 4H), 3,01 (s, 4H), 2,82 (t, $J = 5,6$ Hz, 2H), 2,40 (s, 6H).

5.3 Procedimento Experimental Teste Biológico

a) Avaliação da Suscetibilidade *In Vitro*

Monócitos derivados da linhagem monocítica humana THP-1 (5×10^4) foram diferenciados em macrófagos pela adição de 20ng/mL de acetato de forbol miristato (PMA) em cultura. Após 72 horas da diferenciação de macrófagos THP-1, em placas pretas de 96 poços (Corning Incorporated, Corning, NY), eles foram infectados com formas promastigotas de *Leishmania infantum* (MHOM/BR/1974/PP75) transfectada com o gene *tdTomato*, em fase estacionária (20 parasitos por macrófago) por 4 horas. Após três lavagens com PBS 1X, as células infectadas foram tratadas com várias concentrações dos compostos testados. Foram realizados dois experimentos independentes, em quadruplicata de cada amostra. o IC_{50} foi determinado pelo método não linear modelo de inclinação variável de regressão de acordo com a equação “*log (inhibitor) vs. response*” no GraphPad Prisma v.8.2.0.

A concentração do composto que inibe 50% do crescimento dos parasitos (IC_{50}) foi determinada pela diminuição da fluorescência dos parasitos na ausência e presença do fármaco, após 72 horas de exposição, por meio de um leitor de microplacas (SpectraMax M2, Molecular Devices, Sunnyvale, CA) com valores de excitação e emissão: 554 e 581nm, respectivamente.

6 REFERÊNCIAS

BENCHIMOL, J. L. et al. Leishmanioses: sua configuração histórica no Brasil com ênfase na doença visceral nos anos 1930 a 1960. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Ciências Humanas*, v. 14, p. 611-626, 2019.

BIBLIOTECA VIRTUAL EM SAÚDE. Agir agora agir juntos investir em dtns: 30/01 dia mundial das doenças tropicais negligenciadas. Disponível em: <https://bvsmms.saude.gov.br/agir-agora-agir-juntos-investir-em-dtns-30-01-dia-mundial-das-doencas-tropicais-negligenciadas/>. Acesso em:

BOECHAT, V. C. Ocorrência de *Leishmania infantum* e alterações histológicas associadas no trato genital e glândula mamária de cães naturalmente infectados. 2015. 78 f. Dissertação (Mestrado em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas) - Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Rio de Janeiro, 2015.

CDC. Disponível em: <https://www.cdc.gov/dpdx/leishmaniasis/index.html>. Acesso em: 03/04/2024.

DNDi. Doença de Chagas. Disponível em: <https://dndial.org/doencas/doenca-de-chagas>. Acesso em: 03/04/2024.

FIOCRUZ. As Leishmanioses. Disponível em: <http://www.dbbm.fiocruz.br/tropical/leishman/leishext/html/tratamento.htm>. Acesso em: 03/04/2024.

GOV.BR/SAÚDE. Leishmaniose visceral 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/l/leishmaniose-visceral/arquivos/lv-graficos-e-mapas.pdf>. Acesso em: 03/04/2024.

HERCOS, G. F. L. Otimização de uma classe de benzenossulfonamidas como agentes anti-trypanosomatidae: planejamento, síntese e avaliação biológica contra *Trypanosoma cruzi* e *Leishmania infantum*. 2023. 94 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2023. DOI <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2023.494>.

INSTITUTO OSWALDO CRUZ. Raio-X do flebotomídeo. disponível em: <https://www.fiocruz.br/ioc/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?infol=3337&sid=32&tpl=printerview>. Acesso em: 03/04/2024.

KATSUNO, K. et al. Hit and lead criteria in drug Discovery for infectious diseases of the developing world. *Nature Reviews Drug Discovery*. v. 14, p. 751, 2015. (DOI: 10.1038/nrd4683).

MARTINHO, A. C. C. Planejamento, síntese e estudo da relação entre estrutura química e atividade biológica de uma classe de sulfonilpiperazinas potente contra o *Trypanosoma cruzi*.

2021. 129 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Uberlândia, Pós-graduação em Química, Uberlândia, 2021. Orientador: Celso de Oliveira Rezende Júnior. Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2021.456>.

MCNAMARA, N. et al. Hit-to-lead optimization of novel phenyl imidazole carboxamides that are active against *Leishmania donovani*. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 240, p. 114577, 2022. DOI: 10.1016/j.ejmech.2022.114577.

MINISTERIO DA SAÚDE. Leishmanioses, ministério da saúde alerta para prevenção. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/2022/agosto/leishmanioses-ministerio-da-saude-alerta-para-prevencao>. Acesso em: 03/04/2024.

MOREIRA, V. R. Antimoniato de meglumina (glucantime®) causa danos ao dna por estresse oxidativo e induz superexpressão de genes envolvidos na defesa antioxidante e reparo do dna. Disponível em: <https://tede2.ufma.br/jspui/bitstream/tede/1767/2/Vanessa%20Ribeiro%20Moreira.pdf>. Acesso em: 03/04/2024.

OMS. Leishmaniose. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>. Acesso em: 03/04/2024.

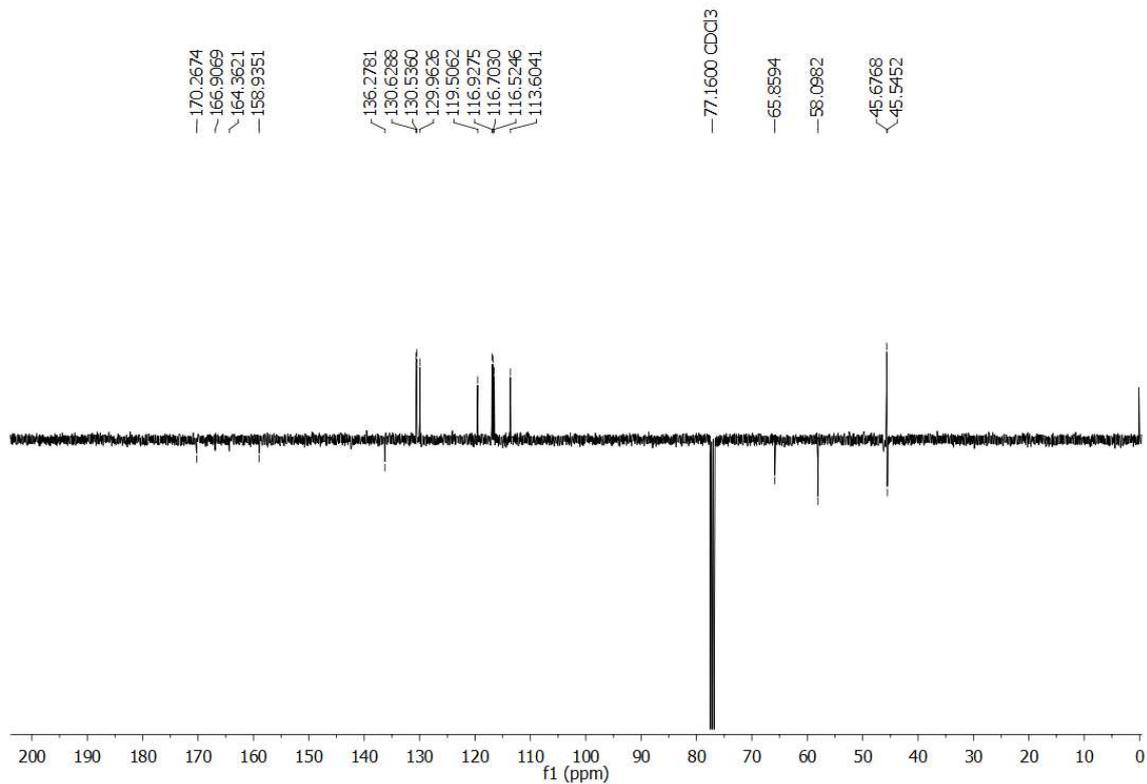
OMS. Mais países eliminaram as doenças tropicais negligenciadas, mas os investimentos são essenciais para sustentar o progresso. Disponível em: <https://www.who.int/news/item/30-01-2023-more-countries-eliminate-neglected-tropical-diseases-but-investments-key-to-sustain-progress>. Acesso em: 03/04/2024.

OPS/OMS. Leishmaniose. Disponível em: <https://www.paho.org/es/temas/leishmaniasis>. Acesso em: 03/04/2024.

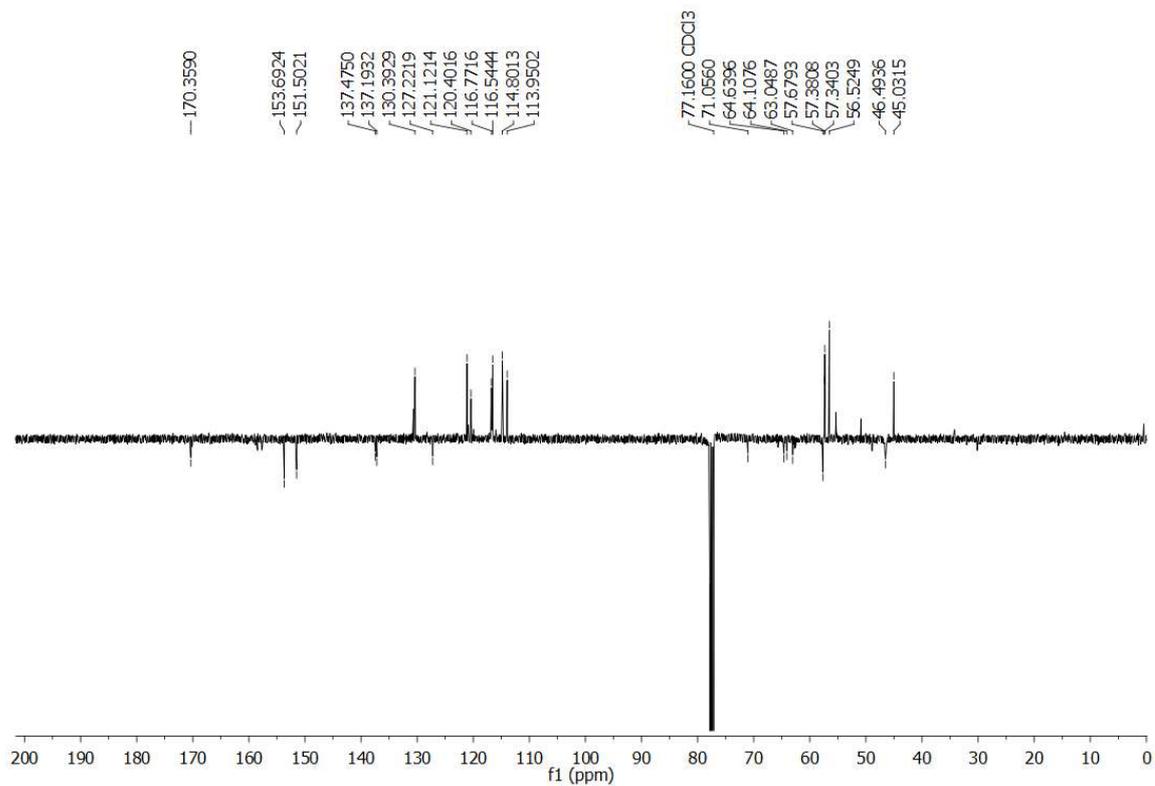
ORDÓNEZ-GUTIÉRREZ, L. et al. In vitro effect of new formulations of amphotericin B on amastigote and promastigote forms of *Leishmania infantum*. *International journal of antimicrobial agents*, v. 30, n. 4, p. 325-329, 2007.

SOUSA, R. L. T.; NUNES, M. I.; FREIRE, S. M. Perfil epidemiológico de pacientes com leishmaniose visceral notificados em hospital de referência em Teresina – PI. *RIES*, v. 8, n. 1, p. 126-135, 2019. doi: 10.33362/ries.v8i1.1475.

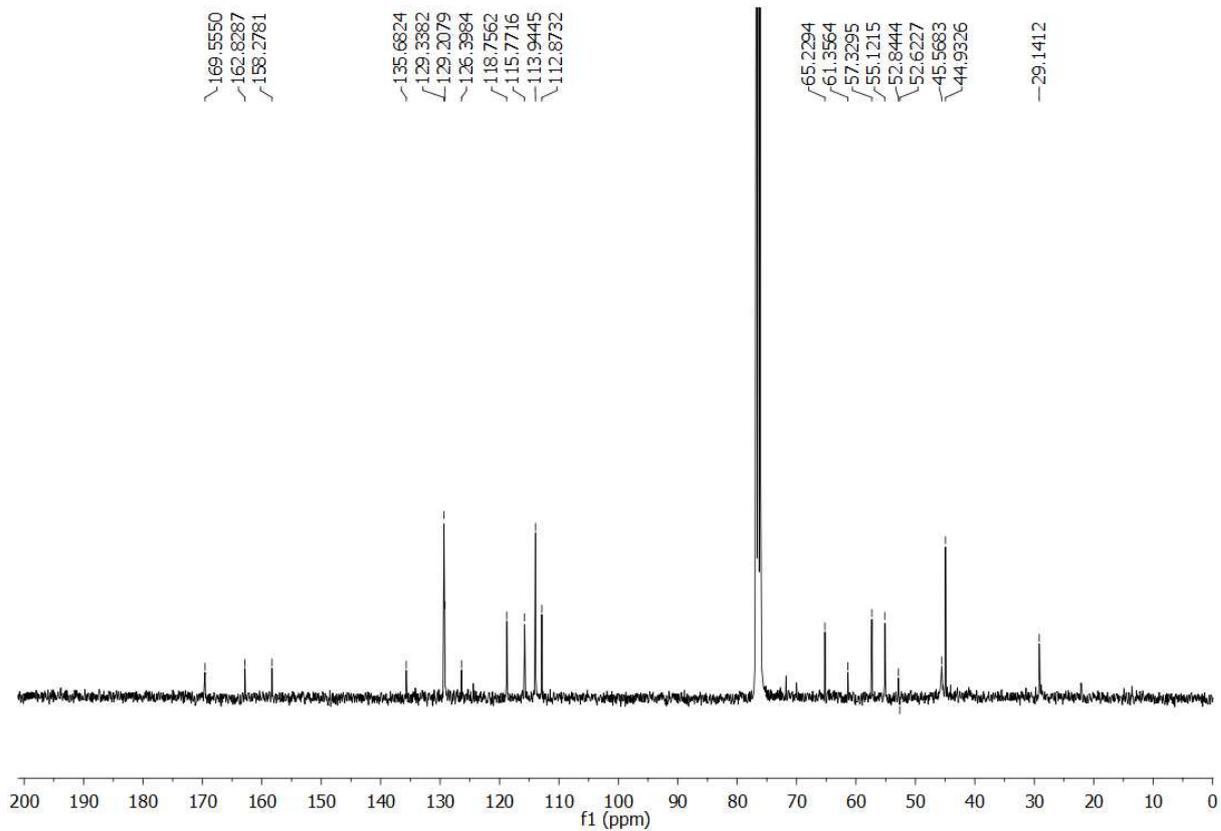
Anexo

Espectro 1 – RMN de ^{13}C do composto 4a

Fonte: Autor

Espectro 2 – RMN de ^{13}C do composto 4b

Fonte: Autor

Espectro 3 – RMN de ^{13}C do composto 4c

Fonte: Autor