

Artigo

Quimioterapia Antileishmania: Uma Revisão da Literatura**Bastos, M. M.; Boechat, N.; Hoelz, L. V. B.; de Oliveira, A. P.***Rev. Virtual Quim.*, 2016, 8 (6), 2072-2104. Data de publicação na Web: 27 de dezembro de 2016<http://rvq.s bq.org.br>**Antileishmanial Chemotherapy: A Literature Review**

Abstract: According to the World Health Organization (WHO), leishmaniasis is one of the major tropical diseases. There are four clinical manifestations of this illness and the most severe form, sometimes lethal, is the visceral leishmaniasis (VL). To date, there is no effective vaccine available, being the chemotherapy the only way to treat this disease, although it presents serious limitations. Several strategies have been employed to improve the leishmaniasis treatment, among them, the use of drug combinations and the development of new drugs. The success in development of new antileishmanial agents depends on the knowledge of the Medicinal Chemistry related to the current treatments in use. For this reason, this review aims to analyze the current drugs, through the concepts of Medicinal Chemistry and the synthetic processes.

Keywords: Leishmaniasis; pentavalent antimony; amphotericin B; pentamidine; miltefosine; paromomycin.

Resumo

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), a leishmaniose é uma das principais doenças tropicais, apresentando-se em quatro tipos de manifestações clínicas, das quais a leishmaniose visceral (LV) é a forma mais grave, podendo ser letal. Até o momento, não há uma vacina, tornando a quimioterapia a única forma de tratamento, apesar de apresentar sérias limitações. Várias estratégias têm sido empregadas para melhorar a quimioterapia desta doença, tais como, o uso de combinações de fármacos já existentes e o desenvolvimento de novos fármacos. Para o sucesso no desenvolvimento de novos agentes antileishmaniais torna-se essencial o conhecimento da Química Medicinal dos fármacos empregados no tratamento da leishmaniose. Desta forma, esta revisão teve como objetivo analisar a terapia atual, através dos conceitos da Química Medicinal, bem como os processos sintéticos para obter estes fármacos.

Palavras-chave: Leishmaniose; antimonias pentavalentes; anfotericina B; pentamidina; miltefosina; paromomicina.

* Fundação Oswaldo Cruz, Instituto de Tecnologia em Fármacos, Farmanguinhos, Departamento de Síntese Orgânica, Manguinhos, CEP 21041-250, Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

✉ mmacedo@far.fiocruz.br

DOI: [10.21577/1984-6835.20160139](https://doi.org/10.21577/1984-6835.20160139)

Quimioterapia Antileishmania: Uma Revisão da Literatura

Mônica Macedo Bastos,^{a,*} Lucas Villas Bôas Hoelz,^a Núbia Boechat,^a
Andressa Paula de Oliveira^{a,b}

^aFundação Oswaldo Cruz, Instituto de Tecnologia em Fármacos, Farmanguinhos, Departamento de Síntese Orgânica, Manguinhos, CEP 21041-250, Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

^bPROBIN - Abeu - Centro Universitário UNIABEU, Rua Itaiara 301, CEP 26113-400, Belford Roxo-RJ, Brasil.

* mmacedo@far.fiocruz.br

Recebido em 15 de agosto de 2016. Aceito para publicação em 26 de dezembro de 2016

1. Introdução
2. Fármacos e novas formulações empregadas no tratamento da leishmaniose
3. A Química Medicinal dos fármacos utilizados no tratamento da leishmaniose
 - 3.1. Antimoniais pentavalentes
 - 3.2. Anfotericina B
 - 3.3. Pentamidina
 - 3.4. Miltefosina
 - 3.5. Paromomicina
4. Considerações Finais

1. Introdução

A leishmaniose é uma infecção parasitária causada por protozoários do gênero *Leishmania*, transmitida pelo vetor flebotomíneo.¹ O gênero é dimórfico, possuindo duas formas principais, a amastigota intracelular, no hospedeiro vertebrado e a promastigota flagelada, no invertebrado.² Esta doença está relacionada à pobreza, desnutrição, condições precárias de habitação e baixa imunidade.³ Além disso, pode estar diretamente ligada às mudanças ambientais, tais como o desmatamento, a construção de novas barragens, sistemas de irrigação e urbanização e a migração de

pessoas não-imunes para áreas endêmicas.⁴ As quatro principais manifestações clínicas da doença são: leishmaniose cutânea (LC), leishmaniose mucocutânea (LMC), leishmaniose cutânea difusa (LCD) e leishmaniose visceral (LV). Sem tratamento, a LV, a forma mais grave, pode ser fatal. Adicionalmente, com o aumento dos casos de AIDS nas camadas mais pobres da população e a crescente urbanização da leishmaniose estima-se que a prevalência da co-infecção HIV/leishmaniose venha a aumentar nos próximos anos.⁴⁻⁷

Esta enfermidade é um problema de saúde pública, atingindo 98 países, com cerca de 12 milhões de pessoas infectadas em todo

mundo. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), estima-se que anualmente ocorram 1,3 milhão de novos casos com 20-30 mil óbitos.⁴ A leishmaniose é prevalente na África, América Latina, Ásia, Bacia Mediterrânea, Oriente Médio e também tem sido identificada na Austrália. No Brasil, essa doença está presente em 19 dos 27 estados, com padrão de transmissão rural. No entanto, verificou-se a expansão da área afetada e a urbanização da endemia. A LV é endêmica em Bangladesh, Brasil, Índia, Nepal e Sudão, onde no Brasil as maiores taxas de incidência ocorrem nas regiões Nordeste e Norte.⁷

Apesar do desenvolvimento recente da vacina para cães (CaniLeish[®]) ser capaz de oferecer proteção parcial, ainda não existe esta alternativa para uso humano.^{8,9} As medidas de prevenção da leishmaniose, como o controle do flebótomo, não são efetivas e, como consequência, a quimioterapia é o principal método de tratar a doença.^{8,9} Contudo, o número de fármacos disponíveis é limitado e nenhum deles apresenta resultado totalmente satisfatório,⁹ visto que apresentam baixa seletividade, necessitam ser administrados em doses elevadas e por via parenteral, sendo também altamente hepatotóxicos, nefrotóxicos e cardiotoxicos.¹⁰ Como resultado desses efeitos adversos graves, observa-se a má adesão ao tratamento, comprometendo a eficácia da terapia.¹¹

Assim, o objetivo desta revisão expositiva é descrever os fármacos, as novas formulações e a química medicinal destes agentes utilizados no tratamento da leishmaniose, compilando dados na literatura atual a fim de facilitar o acesso às informações sobre o arsenal terapêutico contra esta doença negligenciada.

2. Fármacos e novas formulações empregadas no tratamento da leishmaniose

Os fármacos de primeira linha mais utilizados no tratamento da leishmaniose são os antimoniais pentavalentes: antimoniato de meglumina (Glucantime[®]) e estibogluconato de sódio (Pentostam[®]). Dentre os de segunda linha, inclui-se a anfotericina B, a pentamidina, a miltefosina e a paromomicina (PM) (Figura 1).

A prática da “monoterapia funcional”, que consiste na administração de apenas um medicamento, levou ao desenvolvimento de cepas resistentes aos fármacos utilizados. Assim, as combinações tornaram-se boas alternativas e têm apresentado várias vantagens em relação à monoterapia, incluindo a redução do tempo de tratamento, resultando na minimização dos efeitos tóxicos; a melhoria da adesão ao tratamento; a diminuição dos custos diretos e indiretos para o sistema de saúde e a atenuação do desenvolvimento de resistência do parasito.^{9,12} Dentre estas combinações terapêuticas estão: antimoniato de meglumina e paromomicina, estibogluconato de sódio e paromomicina, miltefosina e paromomicina, anfotericina B e miltefosina e, por fim, anfotericina B e paromomicina.^{9,12,13}

Adicionalmente, outra estratégia que tem sido empregada para melhorar a eficiência da quimioterapia da leishmaniose é a busca de novas formas farmacêuticas sítio-específicas. Os sistemas mais utilizados são os lipossomas e as nanopartículas, que apresentam como principais benefícios: a redução dos efeitos adversos, através da concentração do fármaco somente nos tecidos ou células afetadas; a proteção do fármaco contra a degradação em fluidos biológicos, permitindo a administração por novas vias; o aumento da biodisponibilidade, possibilitando a administração por via oral.⁸

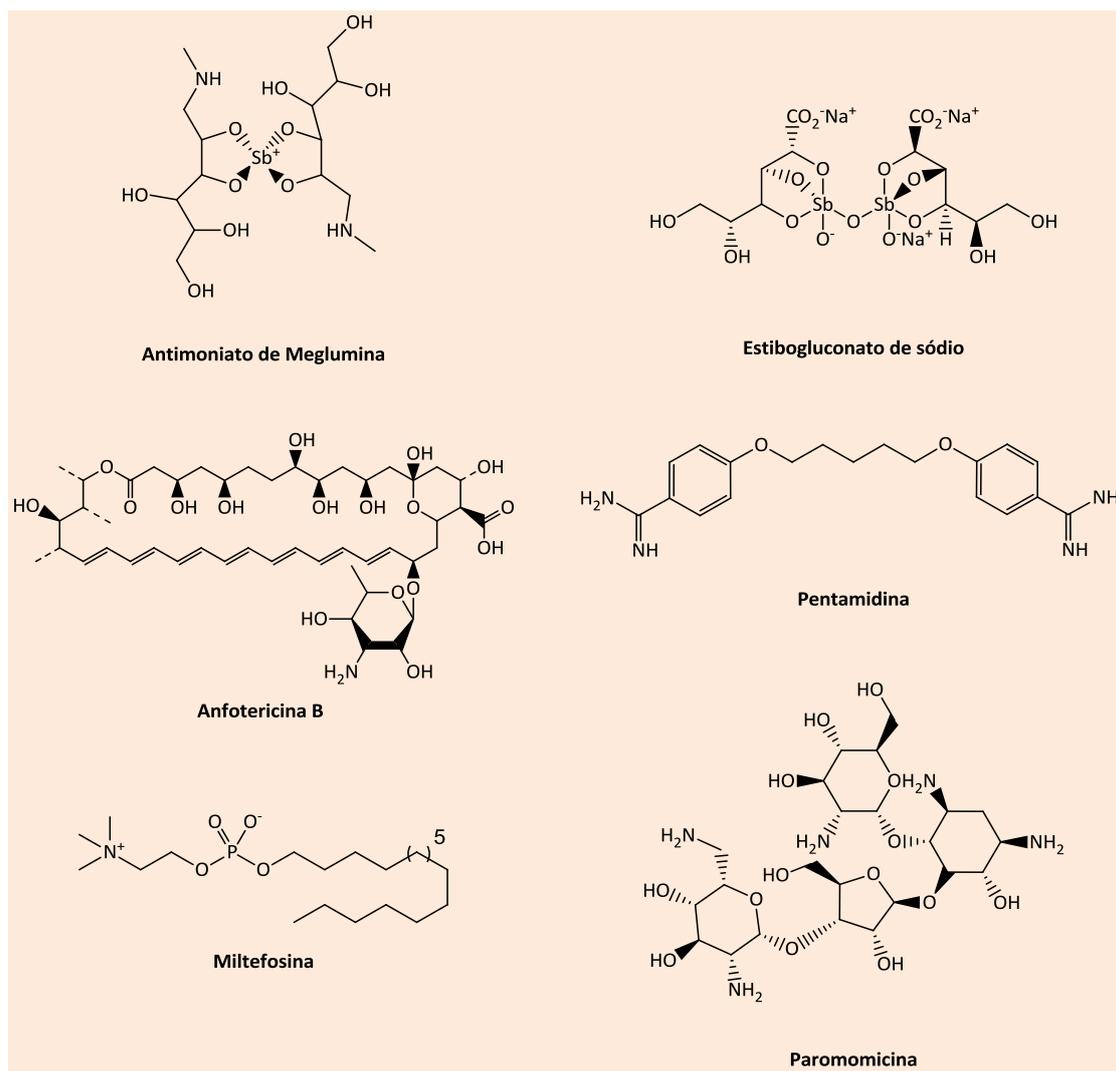


Figura 1. Fármacos de primeira e segunda linha utilizados no tratamento da leishmaniose

3. A Química Medicinal dos fármacos utilizados no tratamento da leishmaniose

3.1. Antimoniais pentavalentes

Os antimoniais pentavalentes são utilizados desde 1945,¹⁴⁻¹⁶ sendo administrados por via intramuscular ou intravenosa. O tempo de duração do tratamento é de até 28 dias, apresentando efeitos adversos comuns como náusea, dor abdominal, mialgia, inflamação pancreática, arritmia cardíaca e hepatite.^{15,17} No entanto,

os mecanismos de ação desses fármacos não estão completamente elucidados, onde a literatura propõe quatro principais hipóteses:¹⁸⁻²¹

- Mecanismo de oxirredução: o Sb(V) pode sofrer redução em sistemas biológicos, levando à formação de compostos de Sb(III), tóxicos ao parasito.^{22,23} Nesta hipótese, os antimoniais podem ser considerados como um pró-fármaco.
- Formação de complexos entre o Sb(V) com alguns nucleotídeos: interfere no metabolismo, através da inibição da topoisomerase do parasito.²³

- Formação de complexos entre o Sb(V) com alguns glicoconjugados ricos em manose e a guanosina 5'-difosfato-D-manose (5'-GDP): interfere na virulência do parasito.²²

- Inibição da enzima superóxido dismutase (SOD): ocasiona o aumento do nível de radicais superóxido, com a consequente morte do parasito.²⁴

Para o mecanismo de resistência, desenvolvido pelo parasito, assume-se como principal hipótese o fato dos compostos antimoniais possuírem sistemas de transporte distintos de outros fármacos.²⁵

Entre os antimoniais pentavalentes mais consumidos no mundo estão o estibogluconato de sódio (Pentostan®) - produzido pela GSK e o antimoniato de meglumina (Glucantime®) - Sanofi-Aventis S.A.²⁶ No Brasil, o medicamento de escolha é o Glucantime®, visto que o Pentostam® não é mais utilizado.²⁶ Por serem antigos e muito tóxicos, pouco se estudou sobre a relação entre estrutura e atividade (SAR, do inglês "Structure-activity relationship") destes compostos. Contudo, baseado nas hipóteses existentes para o mecanismo de ação, observa-se que a presença do antimônio é essencial para a atividade biológica.

Cabe ressaltar que a estrutura exata desses antimoniais permaneceu desconhecida por décadas, principalmente devido ao estado amorfo destes compostos, sendo este fato impeditivo para a avaliação através da técnica de difração de raios-X. A utilização dos métodos de espectrometria de massas e técnicas de ressonância magnética nuclear (RMN) permitiram avanços significativos nesta área.²⁷

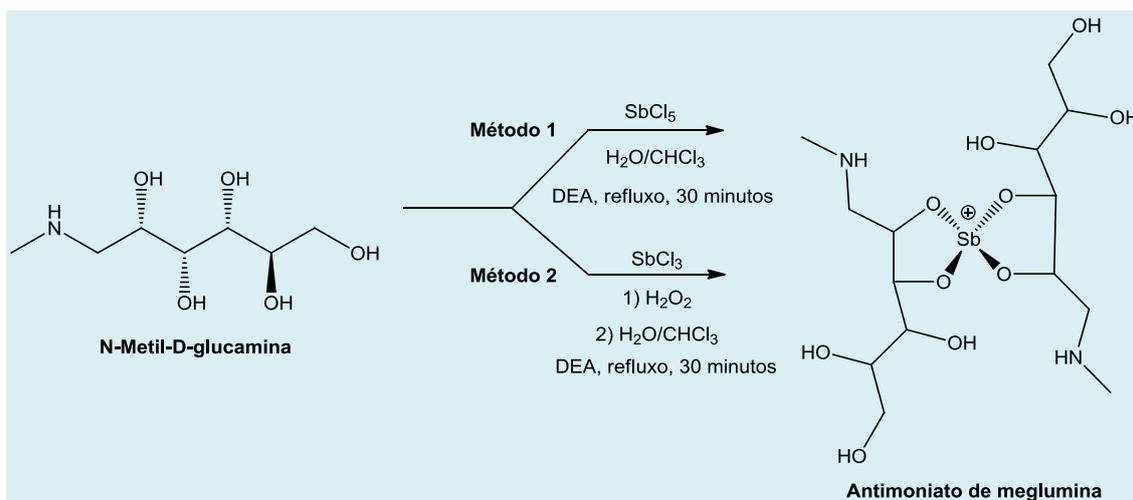
Com relação às formas farmacêuticas, alguns trabalhos foram desenvolvidos visando obter novas formulações, sendo o uso de ciclodextrinas e lipossomas as principais estratégias utilizadas. As ciclodextrinas são sistemas formados por 6-12 unidades cíclicas de glicose, unidas por ligações glicosídicas, sendo muito utilizadas como carreadores de fármacos, devido aos bons resultados de melhoria da solubilidade, da velocidade de dissolução, da estabilidade

e da biodisponibilidade.²⁸ Os lipossomas são microesferas constituídas de uma ou mais bicamadas lipídicas, e sua organização é semelhante à membrana celular, podendo armazenar compostos hidrossolúveis em seu interior. Como podem ser capturadas por macrófagos presentes principalmente, no fígado, baço e medula óssea, agem direcionando o fármaco para os sítios de infecção, melhorando sua disponibilidade.^{29,30} Apesar dos bons resultados de avaliação biológica destas formulações, ainda não existe antimoniais com apresentações diferentes da convencional. Este fato pode estar relacionado à dificuldade em desenvolver uma tecnologia que seja capaz de produzir uma formulação estável.^{29,30}

3.1.1. Síntese dos antimoniais pentavalentes

A primeira síntese do antimoniato de meglumina foi descrita em 1941 pela Rhone Poulenc.³¹ Neste trabalho foram utilizados o $SbCl_3$ (tricloreto de antimônio) ou $SbCl_5$ (pentacloroeto de antimônio) como reagentes (Esquema 1).³¹ Contudo, outros métodos para a preparação destes organoantimoniais pentavalentes têm sido descritos.³²⁻³⁵ Dentre os reagentes utilizados estão o H_3SbO_4 (ácido antimônico), o Sb_2O_5 (pentóxido de antimônio) e o $KSb(OH)_6$ (hexahidroxiantimoniato de potássio) como fontes de antimônio.

No antimoniato de meglumina obtido a partir de $KSb(OH)_6$, observou-se menos do que 0,0015% (p/p) de Sb(III) residual,²⁵ quantidade 10 vezes inferior aos valores encontrados em antimoniatos sintetizados a partir do $SbCl_5$.^{25,36} Os compostos obtidos a partir de $KSb(OH)_6$ e $SbCl_5$ foram avaliados *in vitro* e *in vivo*³⁶ em infecções por *Leishmania amazonensis*. Embora os compostos mais ativos apresentassem os maiores níveis de Sb(III), nenhuma correlação foi encontrada entre a atividade antileishmania do antimoniato de meglumina e seu Sb(III) residual.



Esquema 1. Esquema geral para a preparação do antimoniato de meglumina descrito na patente britânica da Rhone Poulenc.³¹ **Legenda:** SbCl_5 (pentacloroeto de antimônio); H_2O (água); CHCl_3 (clorofórmio); DEA (dietilamina); SbCl_3 (tricloreto de antimônio); H_2O_2 (peróxido de hidrogênio)

Mesmo que o Sb(III) residual não afete a eficácia dos antimoniais pentavalentes, ele pode ser responsável por alguns dos efeitos secundários desta classe de fármacos. Desta forma, a quantidade de Sb(III) residual deve ser reduzida com objetivo de aumentar a segurança da terapia; e no âmbito da produção industrial, melhorar a qualidade do produto.³⁶

Em 2015, Boechat e colaboradores descreveram um processo de obtenção do antimoniato de meglumina, a partir de modificações realizadas na síntese original.³⁷ A primeira mudança foi a retirada do solvente orgânico e a redução da quantidade de dietilamina (DEA) do processo. A segunda alteração foi a inversão na adição das matérias-primas. Neste processo, a adição do antimônio foi feita à solução de *N*-metil-*D*-glucamina, ao contrário da descrição na patente. Estas mudanças foram capazes de melhorar a segurança do produto, que foi obtido com maior grau de pureza.³⁷

A síntese do estibogluconato de sódio foi descrita por Wang em um processo que consiste na reação entre o gluconato de sódio e o SbCl_3 , em água.³⁸ Posteriormente, outra metodologia que reage o ácido glucônico e o Sb_2O_5 hidratado, obtido a partir

da reação entre o SbCl_5 e água, foi empregada com sucesso para a obtenção deste produto.³⁹ Este trabalho foi o primeiro a realizar a caracterização do estibogluconato de sódio através da espectrometria de massas por infusão direta.

3.2. Anfotericina B

A anfotericina B tem sido utilizada em casos onde são encontrados altos níveis de resistência aos antimoniais.⁴⁰ Trata-se de um produto natural, isolado pela primeira vez em 1955, a partir de culturas de *Streptomyces nodosus*.⁴¹ Este fármaco é usado sistematicamente em pacientes imunocomprometidos; no entanto, as suas propriedades físico-químicas não são boas.⁴² Pertencente à classe IV do Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB),⁴³ possui limitada solubilidade em água e baixa permeabilidade em membrana, devido ao seu peso molecular elevado e a presença de muitos grupos aceptores e doadores de ligação de hidrogênio. Como resultado, é fracamente absorvida, apresentando baixa biodisponibilidade oral no homem.⁴⁴ Por este motivo, a anfotericina B é administrada por

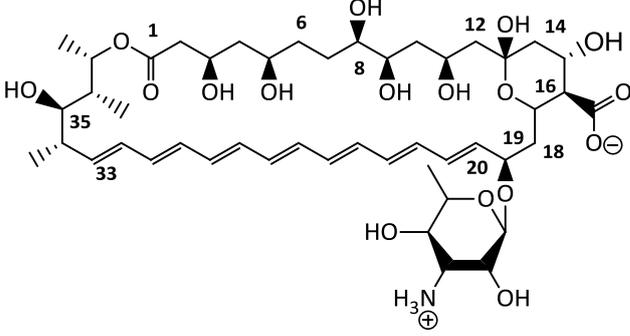
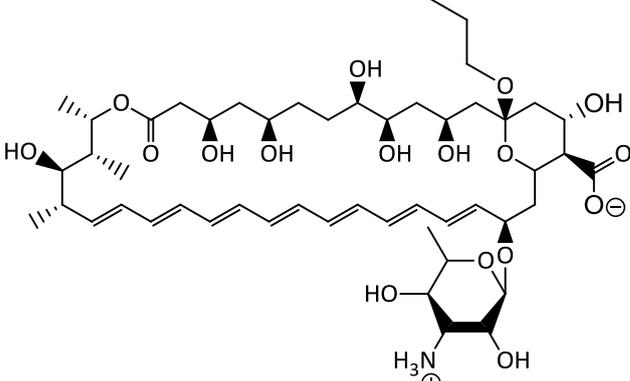
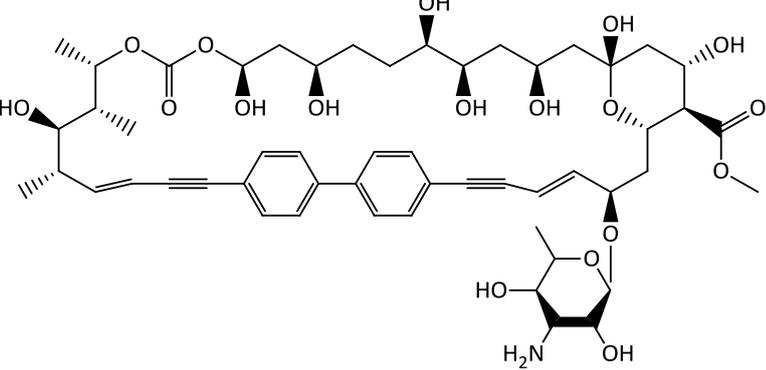
via intravenosa, o que limita o seu uso em países pobres e em desenvolvimento, já que este processo demanda de hospitalização do paciente.⁴⁵ O efeito adverso mais importante é a nefrotoxicidade.^{46,47} As formulações lipossomais reduziram estes efeitos e permitiram o emprego de doses mais elevadas,^{48,49} entretanto, apresentando um elevado custo, o que também limita sua aplicação.⁵⁰

Pertencente à classe dos macrolídeos polienos, que também compreende a anfotericina A e a nistatina,^{51,52} a anfoterecina B foi inicialmente desenvolvida como antifúngico, e teve o seu mecanismo de ação investigado antes da sua estrutura ser completamente elucidada, através da análise de raios-X do seu derivado de amida. Sua estrutura compreende uma macrolactona de 38 membros, que contém um anel de seis membros, formado a partir de C-13 e da hidroxila em C-17, dez hidroxilas, uma carbonila em C-16 e sete ligações duplas conjugadas entre C-20 e C-33 (Figura 2). A estrutura tridimensional resultante mostra que os átomos do anel da lactona se encontram praticamente no plano. Outra particularidade é que os diferentes grupos funcionais estão dispostos de modo a formar duas subunidades bem distintas: uma hidrofílica e outra hidrofóbica, sendo estes fatores importantes para o mecanismo de ação do fármaco.⁵³

Embora o mecanismo de ação não seja completamente compreendido, alguns trabalhos mostram que a anfotericina B atua ligando-se ao ergosterol da membrana celular, ocasionando alterações na permeabilidade da membrana, o que resulta a saída de íons que causam a morte celular.⁵³ A interação do fármaco com a membrana também promove a formação de poros, levando o extravasamento do conteúdo intracelular até a morte celular. Além disso, assume-se que alterações imunológicas, tal como o estresse oxidativo, pode potencializar a resposta do hospedeiro.⁵³

Um estudo de relação entre estrutura e atividade (“Structure-Activity Relationship”; SAR) da anfotericina B foi descrito por Borowski e colaboradores.⁵⁴ Neste trabalho, os compostos foram testados em espécies de *Saccharomyces cerevisiae* e *Candida albicans*, utilizadas como modelos de células patogênicas contendo ergosterol, que é comum ao gênero *Leishmania*. Os compostos avaliados apresentavam modificações estruturais na amina livre (**1**) e no grupo ácido carboxílico (**2**), confirmando que a presença do grupo amino protonado, com carga formal positiva (1+), é necessária para a atividade.⁵⁴ Além disso, a derivatização do ácido (**2**) não altera de modo significativo a atividade biológica. Neste trabalho, alguns análogos da anfotericina B foram sintetizados e avaliados,⁵⁴ e os resultados estão descritos na Tabela 1.

Tabela 2. Análogos da anfotericina B, sintetizados pela Smithkline Beecham e por Rogers e colaboradores, com seus respectivos valores de IC_{50} ^{55,56}

Compostos	Concentração Inibitória (μM) – IC_{50} <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Concentração Inibitória (μM) – IC_{50} <i>Candida albicans</i>
 <p style="text-align: center;">Anfotericina B</p>	0,05	0,03
 <p style="text-align: center;">(3)</p>	NA	16,6
 <p style="text-align: center;">(4)</p>	NA	1264

NA= Não avaliado

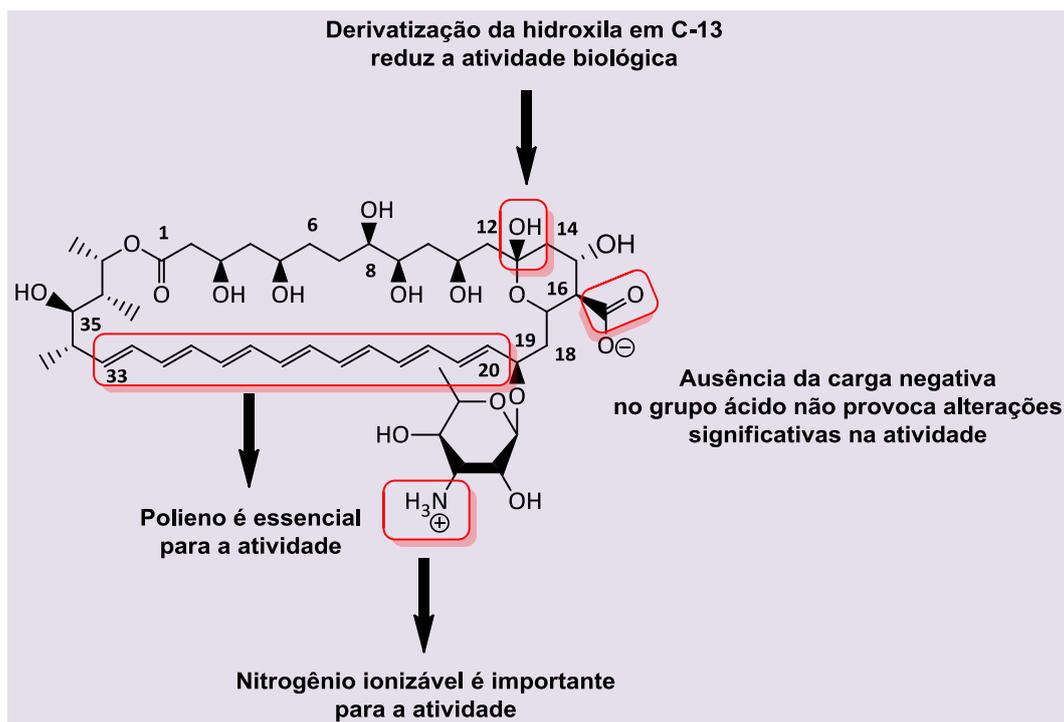


Figura 2. Relação entre estrutura e atividade (SAR) com base nos análogos da anfotericina B

Atualmente, existem quatro principais formulações para este medicamento: anfotericina B desoxicolato, anfotericina B lipossomal (L-Amb), anfotericina B em dispersão coloidal (ABCD) e o complexo lipídico de anfotericina B (ABLC).⁵⁷

A anfotericina B desoxicolato consiste no fármaco convencional que é associado ao desoxicolato de sódio, com o objetivo de alcançar maior solubilidade em água e estabilizar a suspensão na forma de micélio. A recomendação para uso desta formulação é por via endovenosa, com objetivo de alcançar níveis úteis do fármaco no sangue e nos tecidos.⁵⁸

A anfotericina B lipossomal (L-Amb), anfotericina B em dispersão coloidal (ABCD) e complexo lipídico de anfotericina B (ABLC) são formulações lipídicas, onde o fármaco atinge maiores concentrações no fígado e no baço, e menores níveis de concentração nos rins, quando comparadas à formulação desoxicolato. Este fato pode explicar a menor nefrotoxicidade das preparações lipídicas, que, por outro lado, são discretamente mais

hepatotóxicas do que a formulação convencional.⁵⁹

A anfotericina B lipossomal (L-Amb), comercializada como Ambisome[®], apresenta o fármaco incorporado em lipossomos com 55 a 75 nanômetros (nm) de diâmetro, que podem ser obtidos a partir da lecitina de soja, colesterol e diestearoilfosfatidilglicerol.⁵⁷ A L-Amb alcança concentrações séricas máximas muito elevadas, porém a maior parte permanece nos lipossomos; além disso, tem a menor toxicidade dentre todas as formulações disponíveis.⁶⁰

Na anfotericina B em dispersão coloidal (ABCD), comercializada como Amphocil[®], o fármaco é formulado com sulfato de colesterol, em microdiscos com diâmetro médio de 122 nm. Apesar de ser pouco nefrotóxica, a literatura descreve alguns efeitos adversos relacionados ao uso da ABCD.⁵⁷

O complexo lipídico de anfotericina B (ABLC), comercializado como Abelcet[®], é um complexo macromolecular com a dimiristoilfosfatidilcolina e o

dimiristoilfosfatidilglicerol. Esta formulação não apresenta menores reações adversas relacionadas com a infusão, contudo seu principal benefício é a menor toxicidade renal.⁵⁷

3.2.1. Síntese da anfotericina B

Apesar da anfotericina B ser um produto natural, ela pode ser obtida através de síntese convergente, que consiste na construção de vários fragmentos da molécula seguida por suas junções. Algumas metodologias que utilizam este conceito estão descritas na literatura.⁶¹⁻⁶⁹

Mc Garvey e colaboradores relataram a obtenção da anfotericina B através da síntese convergente entre dois principais fragmentos.⁶³ A rota sintética para a formação do primeiro fragmento (**13**) é composta de sete etapas de reação (Esquema 2). Para a obtenção do segundo fragmento (**15**) é descrita uma condensação aldólica assimétrica de Evans, obtendo o produto desejado com 71% de rendimento e 94% de pureza enantiomérica. Nesta reação, o auxiliar quiral (X_N) não funciona somente para a indução da estereoquímica, mas também como um grupo de proteção (Esquema 3). Para a síntese do produto final, é empregado um método com quatro etapas reacionais (Esquema 4). A estratégia descrita no presente estudo tem potencial aplicabilidade para a síntese de antibióticos macrólídeos, visto que leva à formação da anfotericina B com rendimento global de 11%.⁶³

3.3. Pentamidina

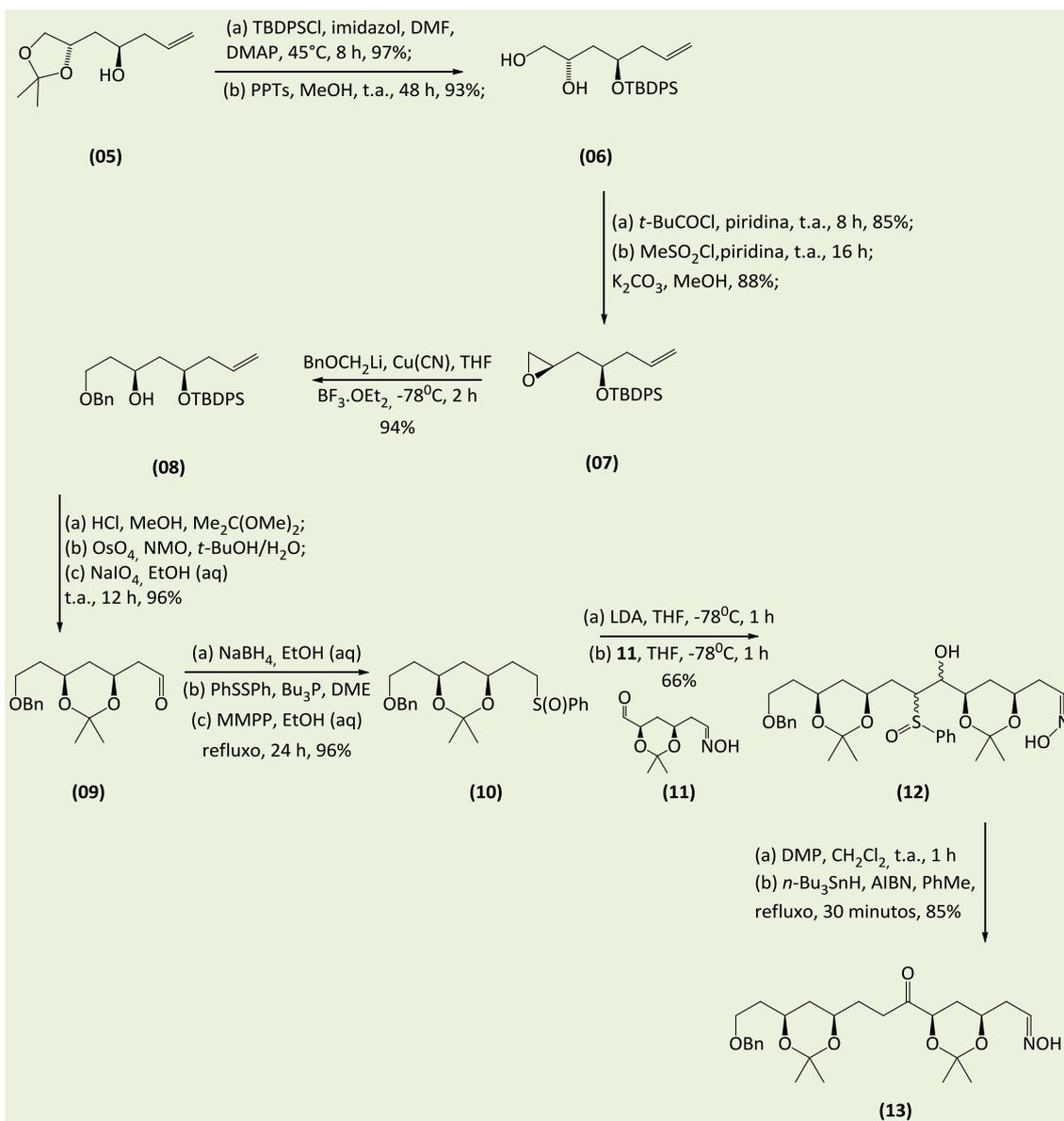
A pentamidina foi sintetizada no final de 1930 como um fármaco antiglicêmico, sendo

posteriormente descoberta a sua atividade antiprotozoária.⁷⁰ Originalmente, esta molécula foi empregada no tratamento da tripanossomíase africana. Em 1939, foi demonstrada a sua atividade contra as infecções causadas por *Leishmania*,⁷⁰ sendo adotada pela primeira vez para tratamento de LV, em 1940, por Kirt e MacDonald.⁷¹ Este fármaco pode ser administrado por via parenteral, intramuscular ou intravenosa. O esquema terapêutico consiste em 4 mg/Kg três vezes por semana, durante 3-4 semanas (10-12 injeções).⁷² Os efeitos adversos mais comuns são mialgias, náuseas e cefaleia, e, menos frequentemente, resulta em gosto metálico, sensação de queimação, dormência e hipotensão.⁷³

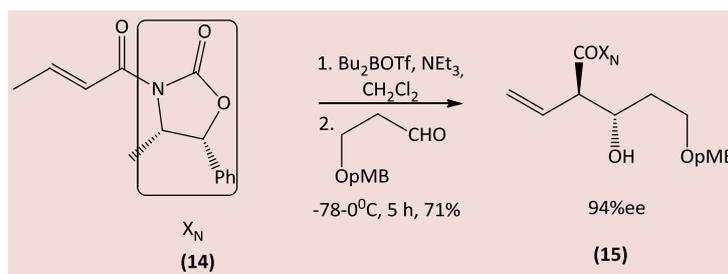
A pentamidina foi inicialmente utilizada na Índia para o tratamento da leishmaniose.⁷³ No entanto, os efeitos secundários irreversíveis, tal como *diabetes mellitus* insulínica dependente, levaram à redução no uso deste medicamento.⁷³ Além disso, casos de resistência à pentamidina também têm sido descritos.⁷⁴

A pentamidina pode atuar sobre o genoma do parasito, dificultando a replicação e transcrição mitocondrial.⁷⁵ Em outra hipótese, assume-se que este fármaco interfira sobre sistemas de transporte poliamínicos e de importantes biomoléculas envolvidas em vários processos bioquímicos da fisiologia celular.⁷⁶ Além disso, o mecanismo de ação pode estar diretamente associado à inibição não-competitiva da recaptura de poliaminas e na inibição direta da *S*-adenosilmetionina descarboxilase (SAMDC), uma enzima envolvida na biossíntese da espermidina.⁷⁷

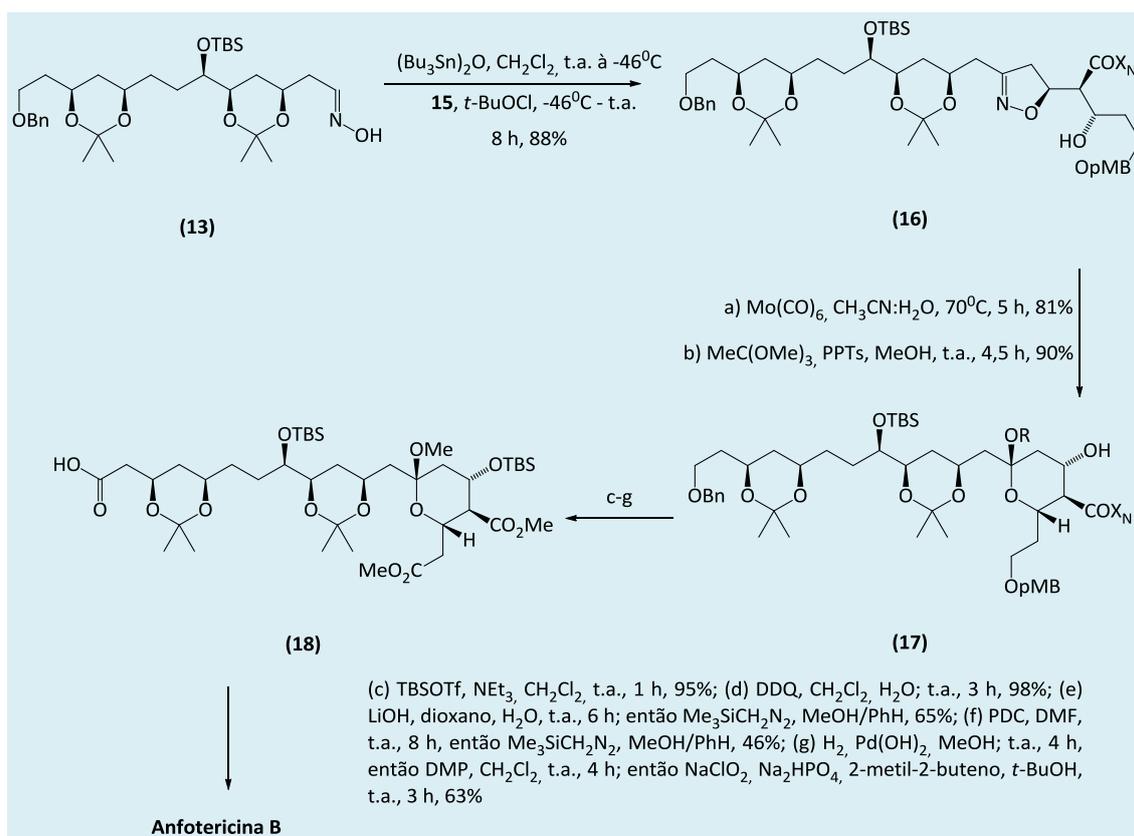
Para o mecanismo de resistência, a hipótese mais aceita é o decréscimo do potencial da membrana mitocondrial, com redução do acúmulo do fármaco em terapias prolongadas.⁷⁸



Esquema 2. Síntese descrita por Mc Garvey e colaboradores para a construção do primeiro fragmento da molécula de anfotericina B (13).⁶³ **Legenda:** TBDPSCI (*tert*-butildifenilclorosilano); DMF (dimetilformamida); DMAP (4-dimetilaminopiridina); PPTs (*p*-toluenossulfonato de piridínio); MeOH (metanol); *t*-BuCOCl (cloreto de pivaloila); MeSO₂Cl (cloreto de mesila); K₂CO₃ (carbonato de potássio); BnOCH₂Li (benziloximetil lítio); CuCN (cianeto de cobre I); HCl (ácido clorídrico); Me₂C(OMe)₂ (2,2-dimetoxi propano); OsO₄ (tetróxido de ósmio); NMO (N-óxido de 4-metilmorfolina); *t*-BuOH (álcool *tert*-butílico); NaIO₄ (periodato de sódio); EtOH (etanol); NaBH₄ (borohidreto de sódio); PhSSPh (dissulfeto de difenila); Bu₃P (tributil fosfina); DME (dimetil éter); MMPP (monoperoxifitalato de magnésio); LDA (di-isopropilamida de lítio); THF (tetraidrofurano); DMP (periodinano de Dess-Martin); CH₂Cl₂ (diclorometano); *n*-Bu₃SnH (hidreto de tri-*n*-butilestanho); AIBN (2,2'-azobisisobutironitrila); PhMe (tolueno)



Esquema 3. Síntese descrita por Mc Garvey e colaboradores para a construção do segundo fragmento da anfotericina B (**15**).⁶³ **Legenda:** Bu_2BOTf (di-*n*-butillboril trifluorometanossulfonato); NEt_3 (triethylamina)



Esquema 4. Síntese descrita por Mc Garvey e colaboradores para a construção da anfotericina B.⁶³ **Legenda:** $(\text{Bu}_3\text{Sn})_2\text{O}$ (óxido de bis(tributilestanho)); *t*-BuOCl (hipoclorito de *terc*-butila); $\text{Mo}(\text{CO})_6$ (molibdênio hexacarbonil); CH_3CN (acetonitrila); $\text{MeC}(\text{OMe})_3$ (1,1,1-trimetoxi-etano); TBSOTf (*terc*-butildimetilsilil trifluorometanossulfonato); DDQ (2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona); LiOH (hidróxido de lítio); $\text{Me}_3\text{SiCH}_2\text{N}_2$ (trimetilsilil diazometano); PhH (benzeno); PDC (dicromato de piridínio); $\text{Pd}(\text{OH})_2$ (hidróxido de paládio); NaClO_2 (clorito de sódio); Na_2HPO_4 (fosfato dissódico)

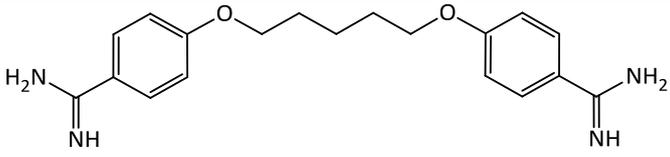
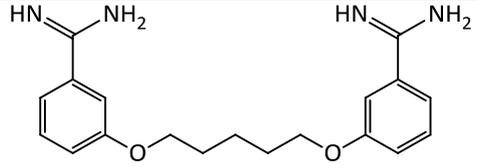
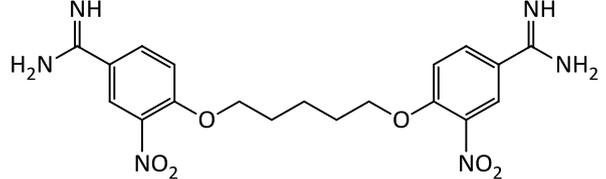
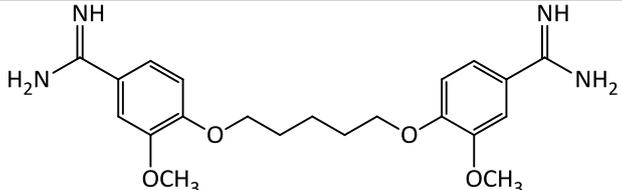
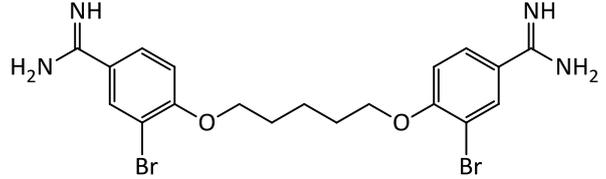
Adicionalmente, alguns estudos de SAR baseados em análogos de pentamidina foram desenvolvidos, sendo descritos a seguir. Em 1990, Bell e colaboradores⁷⁹ observaram que a troca dos grupos *para*-amidinos para as posições *meta* (**19**) promove a redução da

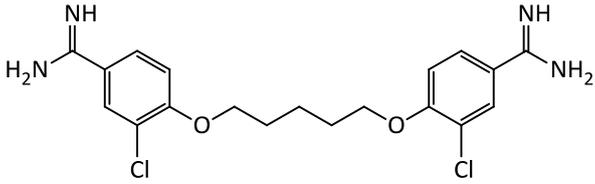
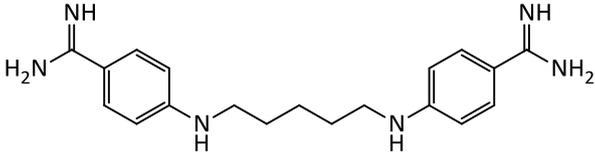
atividade antileishmania. Entretanto, os efeitos da substituição em posição *orto* ao diéter no anel aromático estão diretamente associados ao tipo de substituinte. Substituição por grupos nitro (**20**) ou metoxi (**21**) resulta na diminuição da atividade

leishmanicida; contudo, substituintes como o bromo (**22**) e cloro (**23**) originam compostos com atividade similar à pentamidina. Outra importante observação foi que a substituição

isotérica dos oxigênios da função éter por nitrogênios (**24**), produzem análogos com atividade ligeiramente superior aos originais (Tabela 3).⁷⁹

Tabela 3. Análogos da pentamidina sintetizados por Bell e colaboradores com seus respectivos valores de IC₅₀⁷⁹

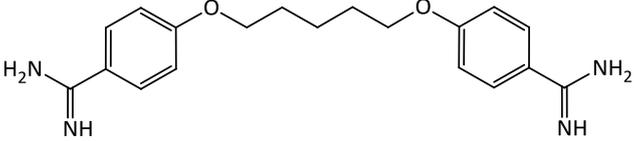
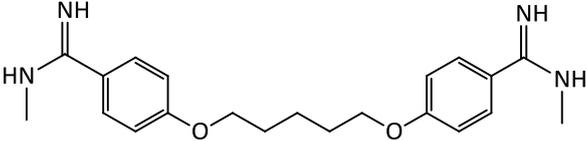
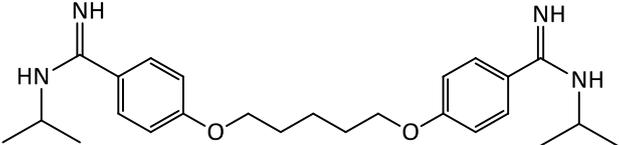
Compostos	Concentração Inibitória (μM) – IC ₅₀ <i>Leishmania mexicana amazonensis</i>
 <p style="text-align: center;">Pentamidina</p>	0,820 ± 0,019
 <p style="text-align: center;">(19)</p>	2,131 ± 0,203
 <p style="text-align: center;">(20)</p>	> 50
 <p style="text-align: center;">(21)</p>	3,031 ± 0,515
 <p style="text-align: center;">(22)</p>	0,677 ± 0,016

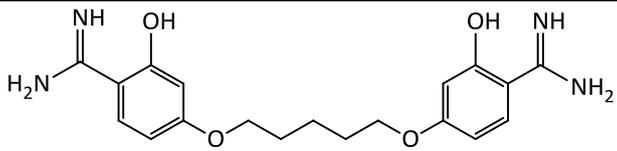
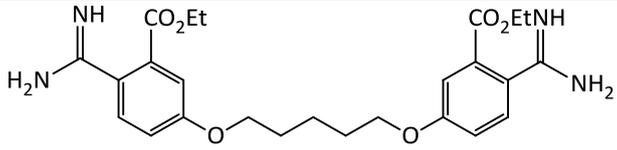
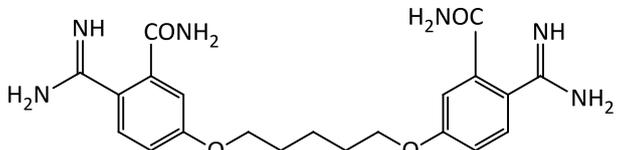
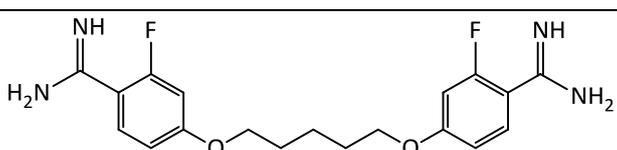
 <p style="text-align: center;">(23)</p>	0,703 ± 0,101
 <p style="text-align: center;">(24)</p>	0,558 ± 0,003

Em outro trabalho Bakunova e colaboradores⁸⁰ mostraram que, em geral, os análogos *N*-substituídos (**25-26**) foram menos ativos, quando comparados com os derivados não substituídos. Por outro lado, a substituição na posição *meta* do anel

aromático por hidroxila (**27**), éster (**28**) ou amida (**29**) provoca uma redução da atividade. No entanto, a inserção do grupo substituinte flúor nesta mesma posição (**30**) não altera a atividade leishmanicida (Tabela 4).⁸⁰

Tabela 4. Análogos da pentamidina sintetizados por Bakunova e colaboradores com seus respectivos valores de IC₅₀⁸⁰

Compostos	Concentração Inibitória (μM) – IC ₅₀ <i>Leishmania donovani</i>
 <p style="text-align: center;">Pentamidina</p>	1,83
 <p style="text-align: center;">(25)</p>	4,69
 <p style="text-align: center;">(26)</p>	17,8

 <p style="text-align: center;">(27)</p>	> 100
 <p style="text-align: center;">(28)</p>	> 50
 <p style="text-align: center;">(29)</p>	> 50
 <p style="text-align: center;">(30)</p>	1,88

Em 2010, Verma e colaboradores realizaram um estudo de relação quantitativa entre estrutura e atividade (“Quantitative Structure-Activity. Relationship”; QSAR) de uma série de análogos de 1,5-di-(4-amidino fenoxy)-pentano ativos na enzima topoisomerase II, mostrando que as substituições no anel aromático (Figura 3) influenciam a interação do análogo no sítio ativo desta enzima. Além disso, substituições no NH₂ do grupamento amidina reduzem a atividade.⁸¹

A Figura 3 mostra um resumo dos resultados dos estudos de SAR e QSAR,

envolvendo a pentamidina e seus análogos.⁷⁹⁻⁸¹

3.3.1. Síntese da pentamidina

Existe uma série de metodologias descritas na literatura para a síntese da pentamidina.⁸²⁻⁸⁷ O método descrito por Geratz e colaboradores^{83,84,87} consiste na reação entre *p*-hidroxi-benzonitrila (**31**) e o 1,5-dibromopentano (**32**), formando o intermediário (**33**), que é utilizado na etapa posterior para a obtenção da pentamidina (Esquema 5).

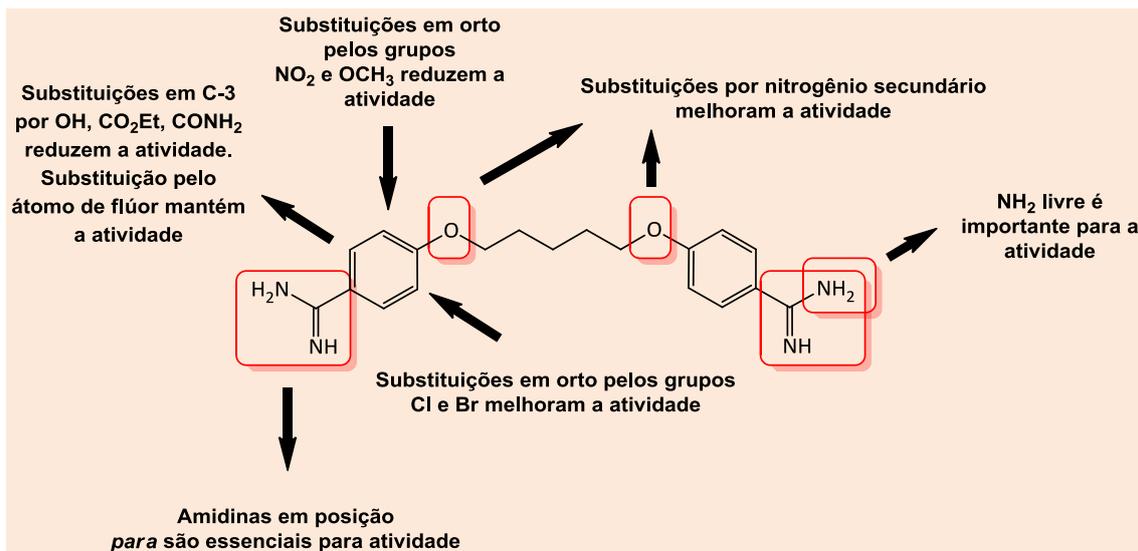
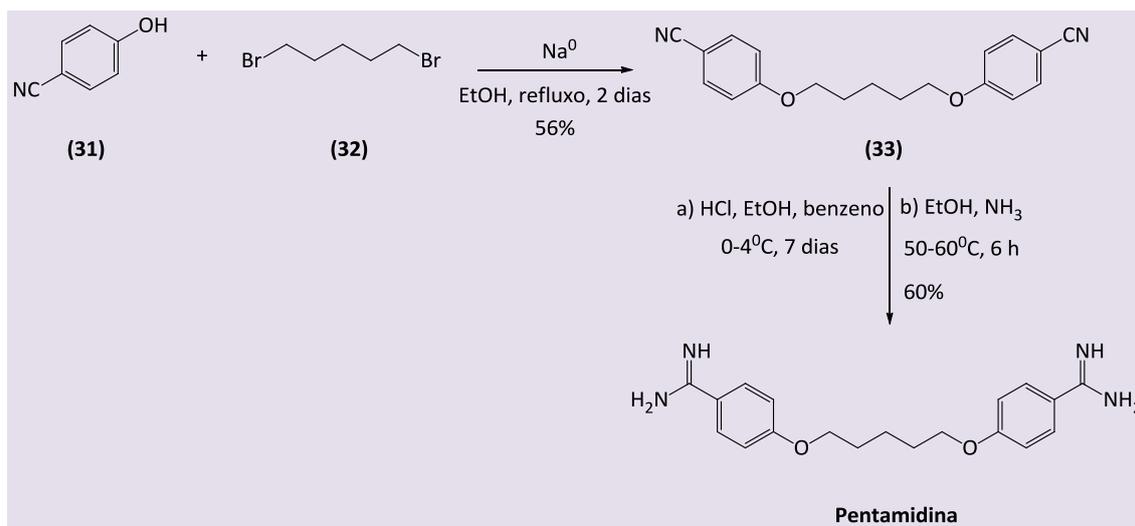


Figura 3. Relação entre estrutura e atividade (SAR) com base nos análogos da pentamidina

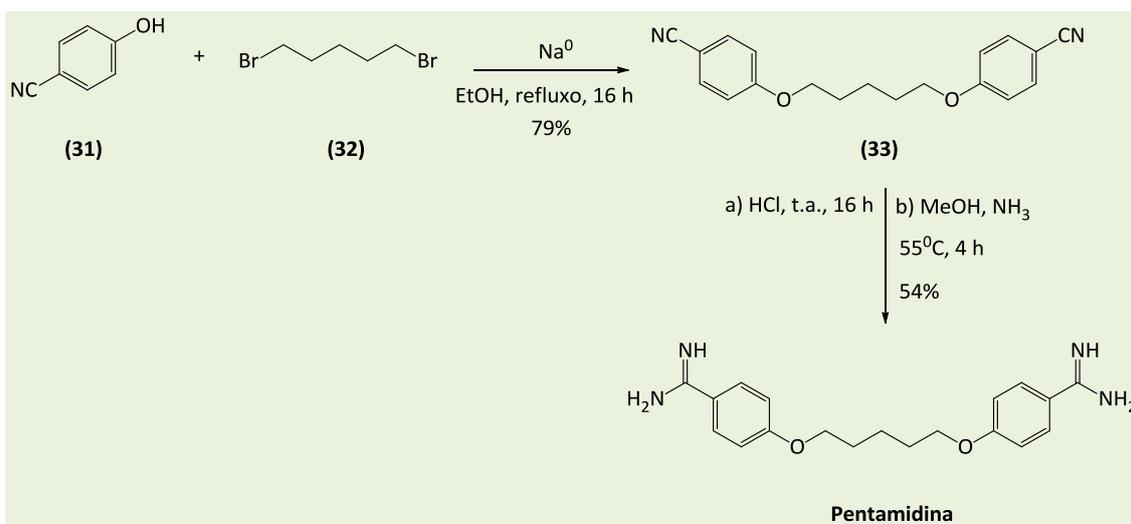


Esquema 5. Síntese descrita por Geratz e colaboradores para a obtenção da pentamidina.^{83,84}

Legenda: EtOH (etanol); NH₃ (amônia)

Xie e Zeng⁸⁵ realizaram modificações na rota sintética para a preparação da pentamidina, que permitiram aumentar o rendimento global para 42% (Esquema 6).

Outras metodologias que visam melhorar o processo também são descritas na literatura.⁸⁶⁻⁸⁸



Esquema 6. Síntese descrita por Xie e Zeng para a preparação da pentamidina⁸⁵

3.4. Miltefosina

A miltefosina, originalmente desenvolvida como fármaco antineoplásico, teve os primeiros relatos da sua atividade antiprotozoária na década de 1980, sendo ativa contra *Tetrahymena pyriformis* e *Leishmania donovani*. Contudo, em 2002, a Índia concedeu o primeiro registro como medicamento oral para leishmaniose.⁸⁹ Seus efeitos secundários mais comuns incluem distúrbios gastrointestinais e toxicidade renal⁸⁹ que levam o paciente à interrupção prematura do tratamento, aumentando assim os casos de resistência do parasito.⁹⁰ Como a miltefosina é teratogênica, mulheres em idade fértil devem realizar tratamento contraceptivo durante a terapia e por mais três meses após o término desta, devido à meia-vida longa do fármaco (cerca de 7 dias), fator que também o torna vulnerável ao rápido desenvolvimento de resistências.^{91,92}

O uso da miltefosina também foi avaliado para LC em estudo realizado na Colômbia, onde *Leishmania viannia panamensis* é prevalente, apresentando taxa de cura de 91%. Na Guatemala, onde *Leishmania viannia braziliensis* e *Leishmania mexicana* são incidentes, as taxas foram de 53%; enquanto que na Bolívia, contra *Leishmania braziliensis*, o índice aumentou para 88%, porém, abaixo

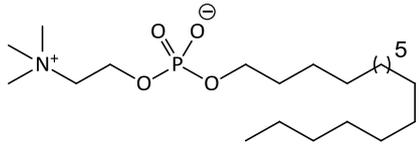
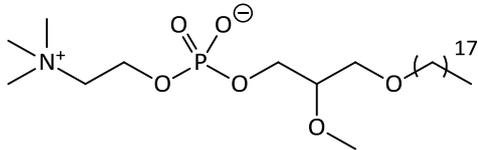
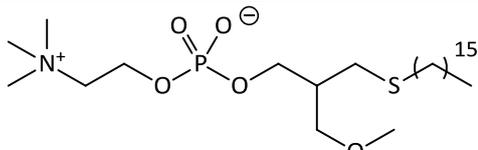
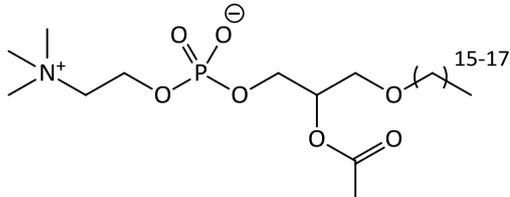
da taxa de cura de 94% relacionada com a utilização de antimoniais.⁹³⁻⁹⁵

O mecanismo de ação da miltefosina ainda não foi estabelecido, mas alguns pesquisadores sugerem que ela possui propriedades imunomoduladoras que auxiliam no mecanismo.⁹⁶⁻⁹⁹ Outros estudos propõem que esta molécula atua no parasito, provocando apoptose e a alteração das vias de sinalização celular mediada por lipídeos.¹⁰⁰ Uma outra hipótese sugere que a ação deste fármaco está relacionada com a inibição da síntese de lipofosfoglicano (LPG) e glicoproteína 63 (gp63) do parasito.¹⁰¹ Adicionalmente, em 2000, Lux e colaboradores demonstraram que este fármaco inibe a enzima 1-acil-2-lisoglicero-3-fosfolina aciltransferase na forma promastigota do micro-organismo.¹⁰¹

O estudo de SAR desta classe de compostos mostra que a presença da ligação éter do grupo trimetilamônio terminal é essencial para a atividade (Figura 6).¹⁰² Além disso, o tamanho da cadeia espaçadora entre os átomos de fósforo e nitrogênio também é importante para a manutenção da atividade leishmanicida,¹⁰³ assim como a cadeia hidrofóbica nos análogos da miltefosina, contendo 16-18 átomos de carbono. No entanto, a inserção de outras funções químicas no meio desta cadeia carbônica,

reduz a atividade (34-36) (Figura 6).¹⁰⁴ Na Tabela 4 estão descritos alguns análogos da miltefosina com seus respectivos valores de atividade.^{103,104}

Tabela 4. Análogos da miltefosina testados em *Leishmania donovani* com seus respectivos valores de IC₅₀.^{103,104}

Compostos	Concentração Inibitória (μM) – IC ₅₀ <i>Leishmania donovani</i>
 <p style="text-align: center;">Miltefosina</p>	0,12-1,32
 <p style="text-align: center;">(34)</p>	< 5
 <p style="text-align: center;">(35)</p>	< 5
 <p style="text-align: center;">(36)</p>	> 30

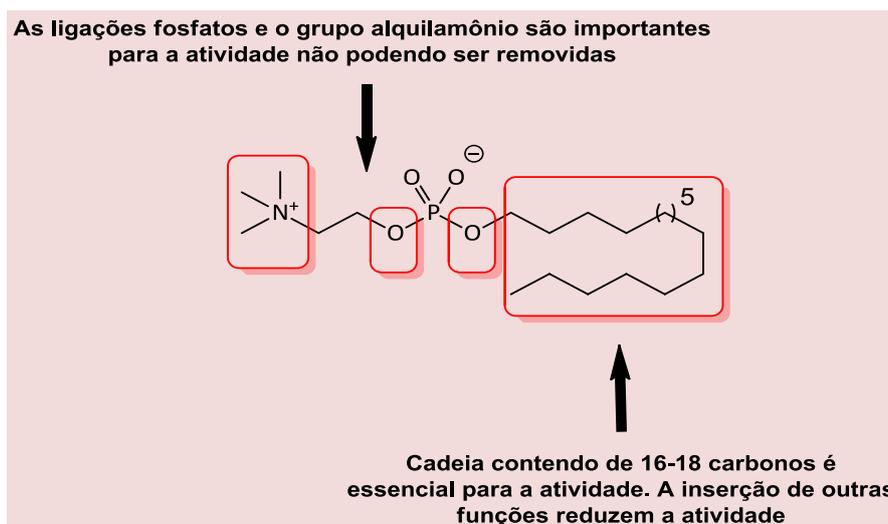


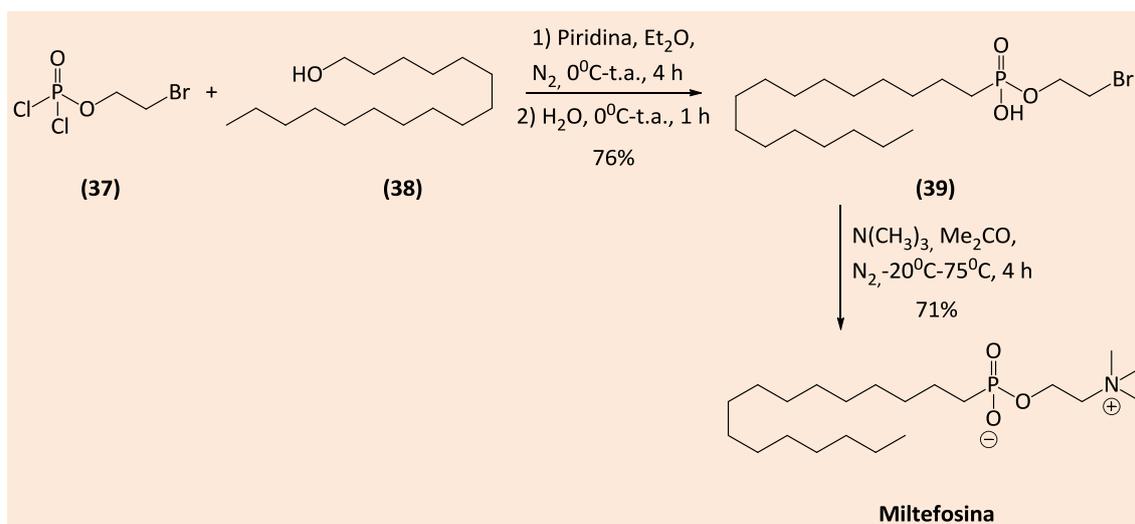
Figura 6 – Relação entre estrutura e atividade (SAR) com base em análogos da miltefosina.¹⁰²⁻¹⁰⁴

3.4.1. Síntese da miltefosina

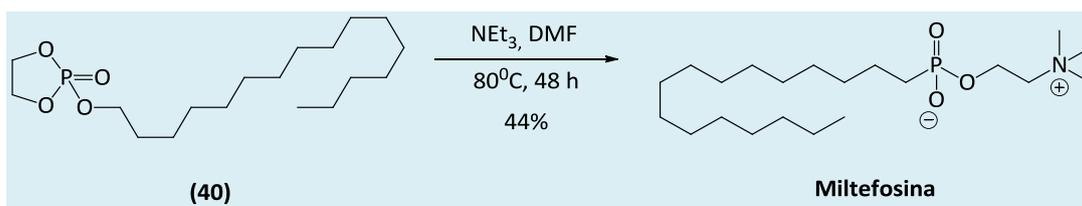
Por ser uma classe de compostos antiga, as alquilfosfocolinas podem ser sintetizadas através de uma série de metodologias.¹⁰⁵⁻¹¹¹ Na década de 1980, Hansen e colaboradores obtiveram a miltefosina através da síntese original, descrita por Hirt e Berchtold,¹¹² com apenas duas etapas reacionais. Este método consiste na reação entre o diclorofosfato de

2-bromoetil (**37**) e o hexadecanol (**38**), seguida da troca do halogênio pelo grupo trimetilamina (Esquema 8).¹⁰⁹

Em outra metodologia, Kanetani e colaboradores (1984) descrevem a síntese da miltefosina, na forma monoidratada, através da reação entre o óxido de 2-alcoxi-1,3,2-dioxofosfolano (**40**) e a trietilamina (Esquema 9).¹¹³



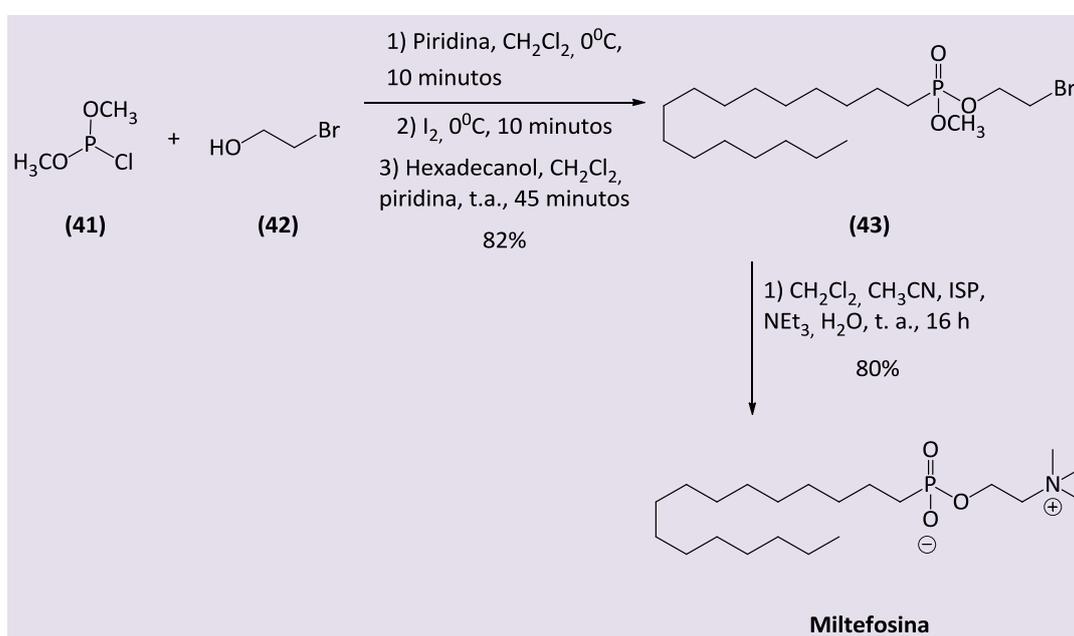
Esquema 8. Preparação da miltefosina através da síntese original.¹⁰⁹ Legenda: Et₂O (éter dietílico); N(CH₃)₃ (trimetilamina); Me₂CO (acetona)



Esquema 9. Síntese descrita por Kanetani e colaboradores em 1984¹¹³

A importância deste fármaco no cenário mundial tem estimulado o desenvolvimento de sínteses alternativas. Em 2001, Hendrickson e Hendrickson desenvolveram

uma rota eficiente, com duas etapas, para preparação desta alquilfosfocolina (Esquema 10).¹¹⁴

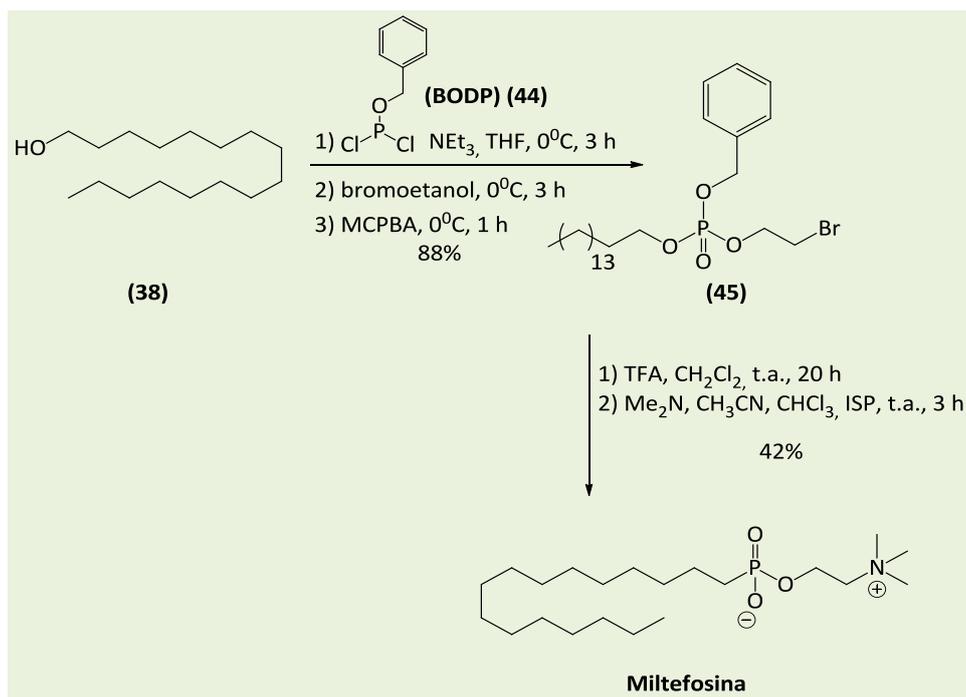


Esquema 10. Metodologia de síntese descrita por Hendrickson e Hendrickson.¹¹⁴

Legenda: I₂ (iodo molecular); ISP (isopropanol)

Zumbuehl e colaboradores utilizaram com sucesso o reagente diclorofosfito de benzila (BODP) (44) para a síntese da miltefosina.¹¹⁵ Esta metodologia também permitiu a síntese

de uma série de éteres e ésteres fosforilados com bons rendimentos reacionais (Esquema 11).¹¹⁵



Esquema 11. Rota proposta por Zumbuehl e colaboradores para a síntese da miltefosina.¹¹⁵

Legenda: BODP (diclorofosfito de benzila); MCPBA (ácido *m*-cloroperbenzóico); TFA (ácido trifluoroacético); Me_2N (dimetilamina); CHCl_3 (clorofórmio)

3.5. Paromomicina

A paromomicina é um aminoglicosídeo produzido por bactérias do gênero *Streptomyces*, que foi identificada na década de 1960.^{9,116,117} Os efeitos colaterais mais comuns são a nefrotoxicidade, ototoxicidade e disfunção hepática.¹¹⁸ Uma das maiores vantagens do uso da paromomicina para o tratamento da leishmaniose é o seu custo baixo, cerca de 10 dólares por paciente.¹¹⁹ No entanto, a necessidade de administração parenteral pode representar uma dificuldade para a sua adoção em países pobres e em desenvolvimento.

Sugere-se que o mecanismo de ação da paromomicina esteja baseado na alteração na síntese de proteínas, na interferência da atividade mitocondrial e na capacidade de captação de precursores de macromoléculas, dificultando, assim, o crescimento do parasito.¹²⁰

Apesar dos casos de resistência aos aminoglicosídeos em bactérias serem bem

descritos na literatura, em leishmaniose, ainda não têm sido um problema, visto que o uso desses agentes ainda é limitado. No entanto, alguns casos já foram identificados nas avaliações *in vitro* com as espécies *Leishmania donovani* e *Leishmania tropica*.^{120,121}

Poucos estudos de SAR foram realizados para derivados da paromomicina em relação à atividade antileishmania.¹²²⁻¹²³ Nestes trabalhos, destacam-se os derivados de paromomicina dissubstituídos, incluindo geneticina (G418), como candidatos promissores que atuam no RNA ribossomal (RNAr) do protozoário. Os rearranjos estruturais, promovidos pela interação destes derivados, no sítio de ligação do RNAr se assemelham aos encontrados em RNAr bacterianos. Dessa forma, sugere-se que o mecanismo de ação desses agentes antileishmaniais se assemelha ao descrito para bactérias.¹²²⁻¹²³

De acordo com Shalev e colaboradores (2015), a paromomicina se liga ao sítio A do RNAr através dos anéis I e II, denominados de

grupo paromamina. Assim, o anel I interage via ligação de hidrogênio com adenina-1491 (A1491) e guanina-1408 (G1408), e o anel II interage com A1492 e A1493 via interação eletrostática iônica, estabilizando uma conformação em que os nucleotídeos se localizam para fora da porção central da hélice de RNAr.¹²¹⁻¹²⁴ Interações semelhantes foram relatadas entre aminoglicosídeos, que apresentam o grupo paromamina, e RNAr bacterianos, indicando que esses dois anéis são essenciais para a interação com ribossomos de procaríotos e eucariotos.¹²¹⁻¹²⁴ Em adição, a presença do grupo -OH na posição 6' do anel I aumenta a atividade antileishmania desses compostos, quando comparados com derivados que apresentam o grupo -NH₂ na mesma posição.¹²²

Entretanto, os anéis III e IV parecem não apresentar restrições conformacionais relacionadas com pontos de interação com o RNAr de *Leishmania*, permitindo que o grupo

-OH da posição 5'' do anel III interaja tanto com nucleotídeos não conservados (e.g., A1491) quanto conservados (e.g., citosina-1407 ; C1407) dentre procaríotos e eucariotos.¹²¹⁻¹²⁴ Além disso, estudos de SAR, baseados em uma série de aminoglicosídeos 4,5-disubstituídos, mostram ainda que a substituição do grupo -OH pelo grupo -NH₂, nesta mesma posição, aumenta a força de ligação e a seletividade em relação ao RNAr de *Leishmania*, reduzindo a toxicidade desses compostos.¹²¹⁻¹²⁵

Por fim, o anel IV interage via duas interações, do tipo eletrostática iônica, com os átomos de oxigênio do grupo fosfato da guanosina-1405 (G1405). Estas ligações são mantidas pelos grupos -NH₂ e -OH nas posições 2''' e 4''', respectivamente, sendo idênticos às interações observadas na estrutura da paromomicina ligada a sítio A do RNAr bacteriano.¹²¹⁻¹²²

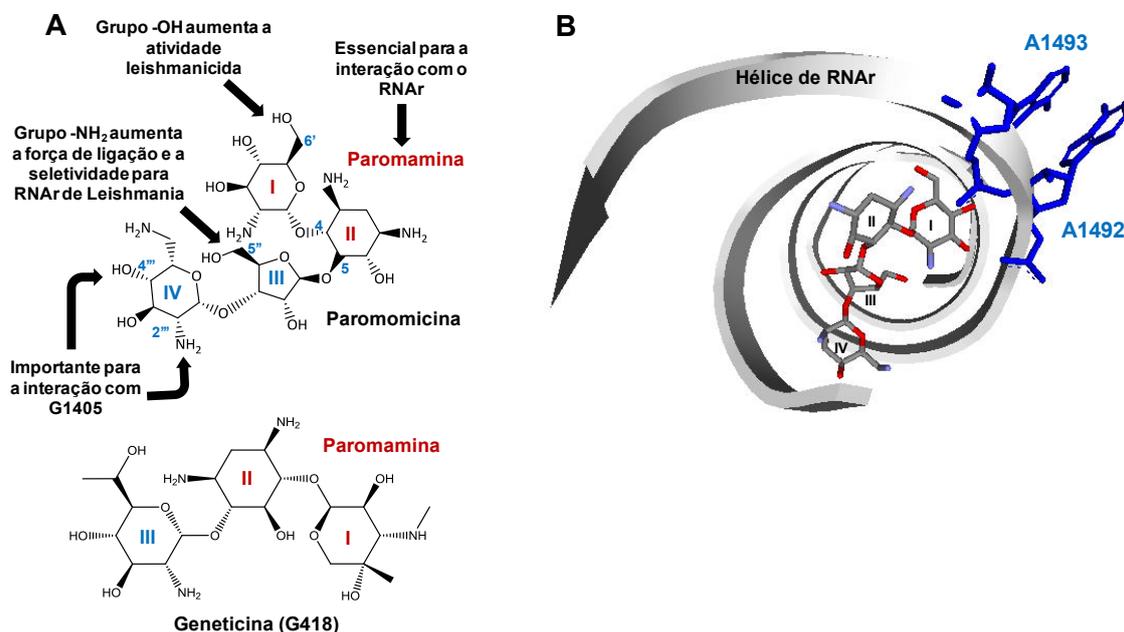


Figura 7. Relação entre estrutura e atividade (SAR) com base nos análogos da paromomicina. **(A)** Representação das estruturas da paromomicina e da geneticina (G418) mostrando os anéis I-IV e I-III, respectivamente, incluindo o grupo paromamina formado pelos anéis I e II (em vermelho). **(B)** Representação do complexo entre a paromomicina e uma hélice de RNA ribossomal (RNAr) de *Leishmania*, onde a adenina-1492 (A1492) e a adenina-1493 (A1493) são deslocadas para fora do centro da hélice de RNAr (código PDB: 4ZC7).¹²³ A estrutura da paromomicina está em representação do tipo bastão e colorida por átomo: carbono, cinza; nitrogênio, azul; oxigênio, vermelho. Os átomos de hidrogênio foram omitidos para maior clareza

3.5.1. Obtenção da paromomicina

A paromomicina é um fármaco de origem natural que apresenta poucas metodologias de síntese descritas na literatura. Em 1976, Kyogoku e colaboradores desenvolveram um método para a obtenção deste composto.¹²⁶ Posteriormente, na década de 1980, a paromomicina foi sintetizada utilizando a neomicina B como material de partida, através de uma rota com cinco etapas de reacionais (Esquema 12).¹²⁷ Neste processo, existe a formação de mistura de produtos em todas as etapas reacionais. Assim, ambas as metodologias descritas são totalmente exploratórias, não se mostrando como alternativa para a obtenção deste fármaco. Dessa forma, novas metodologias para a obtenção deste fármaco devem ser exploradas.

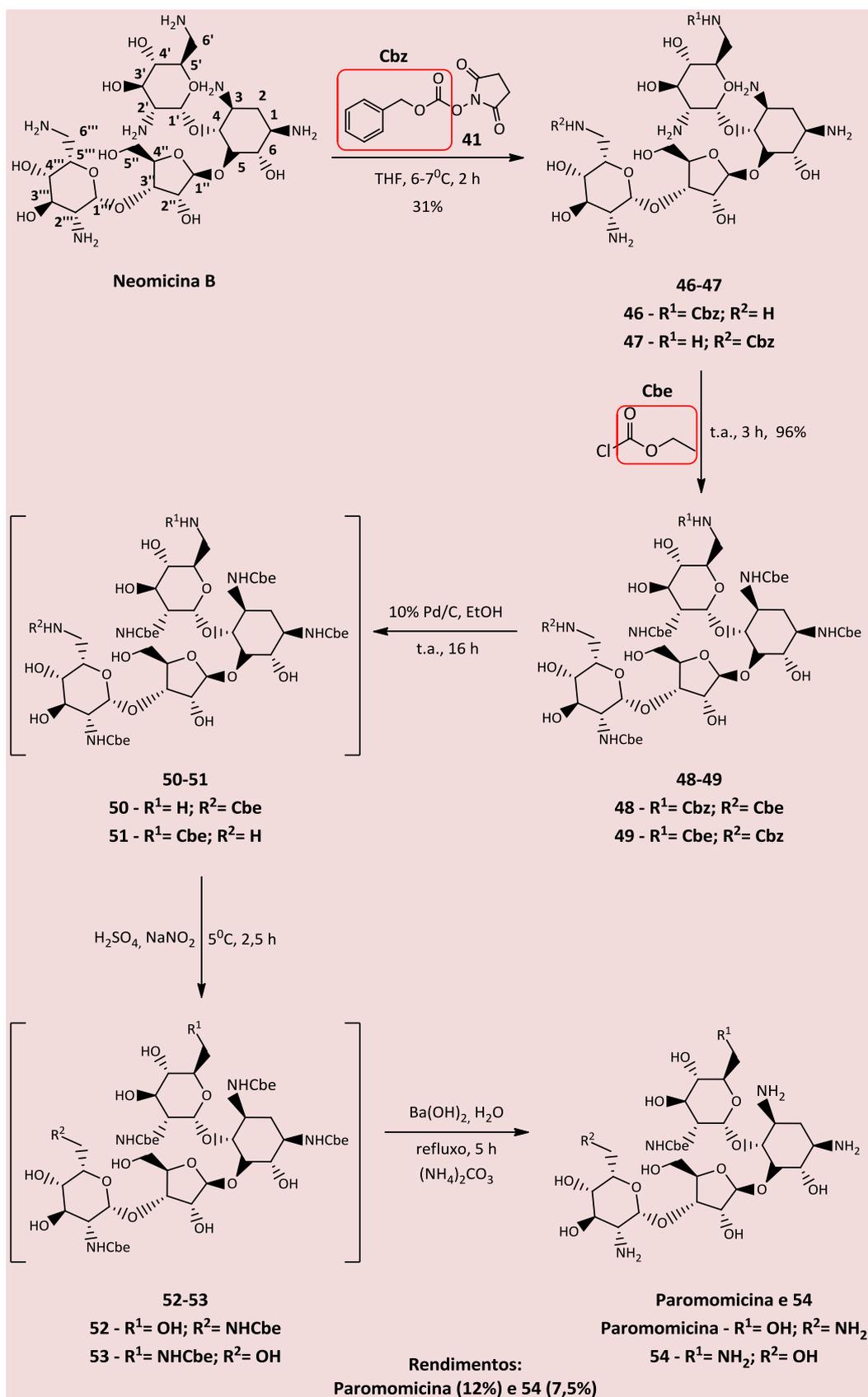
Em 2007, o licenciamento da paromomicina injetável na Índia, como tratamento eficaz e bem tolerado para LV, fez com que este fármaco fosse incluído na lista

modelo da OMS de medicamentos essenciais para o tratamento da leishmaniose.¹²⁸

4. Considerações finais

Atualmente, a quimioterapia é a melhor forma de tratar as várias formas de leishmaniose. Os antimoniais pentavalentes, embora tóxicos, ainda são utilizados como fármacos de primeira escolha, onde novas formulações farmacêuticas estão sendo exploradas.

Até o momento, os estudos de SAR da anfotericina B, pentamidina, miltefosina e paromomicina não foram suficientes para desenvolver um novo fármaco mais eficaz e menos tóxico. Baseados nestas observações, sugerimos que uma nova opção terapêutica para a leishmaniose provavelmente surgirá de uma classe química diferente destas e, por conseguinte, estudos de novos protótipos devem ser fortemente apoiados.



Esquema 12. Síntese da paromomicina a partir da neomicina B.¹²³ **Legenda:** Pd/C – paládio sob carvão; H₂SO₄ – ácido sulfúrico; NaNO₂ (nitrito de sódio); Ba(OH)₂ (hidróxido de bário); (NH₄)₂CO₃ (carbonato de amônio)

Referências Bibliográficas

- ¹ Chappuis, F.; Sundar, S.; Hailu, A.; Ghalib, H.; Rijal, S.; Peeling, R. W.; Alvar, J.; Boelaert, M. Visceral leishmaniasis: what are the needs for diagnosis, treatment and control?. *Nature Reviews Microbiology* **2007**, *5*, 873. [CrossRef] [PubMed]
- ² Lukasz, K. Leishmaniasis. *Human Vaccines* **2011** *7*, 1204. [CrossRef] [PubMed]
- ³ Kobets, T.; Grekov, I.; Lipoldova, M. Leishmaniasis: Prevention, parasite detection and treatment. *Current Medicinal Chemistry* **2012**, *19*, 1443. [CrossRef] [PubMed]
- ⁴ Sítio da Organização Mundial de Saúde (WHO). Disponível em: <http://www.who.int/leishmaniasis/burden/en/>. Acesso em: 20 de Março de 2016.
- ⁵ Antinori, S.; Schifanella, L.; Corbelli, M. Leishmaniasis: new insights from an old and neglected disease. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* **2012**, *31*, 109. [CrossRef] [PubMed]
- ⁶ Shane, R. W.; Bot, C.; Kelly, J. M.; Hall, B. S. Trypanocidal activity of nitroaromatic prodrugs: current treatments and future perspectives. *Current Topics in Medicinal Chemistry* **2011**, *11*, 2072. [CrossRef] [PubMed]
- ⁷ Bastos, M. M.; Boechat, N.; Gomes, A. T. P. C.; Neves, M. G. P. M. S.; Cavaleiro, J. A. S. O uso de porfirinas em terapia fotodinâmica no tratamento da leishmaniose cutânea. *Revista Virtual de Química* **2012**, *4*, 257. [Link]
- ⁸ Alving, C.R. Delivery of liposome-encapsulated drugs to macrophages. *Pharmacology & Therapeutics* **1983**, *22*, 407. [CrossRef] [PubMed]
- ⁹ Alvar, J.; Croft, S.; Olliaro, P.; David, H. M. Chemotherapy in the treatment and control of Leishmaniasis, *Advances in Parasitology*, **2006**, Academic Press, London, 223-274. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁰ Murray, H. W.; Berman, J. D.; Davies, C. R.; Saravia, N. G. Advances in leishmaniasis. *The Lancet* **2005**, *366*, 1561. [CrossRef] [PubMed]
- ¹¹ Sundar, S.; Mehta, H.; Suresh, A. V.; Singh, S. P.; Rai, M.; Murray, H. W. Amphotericin B treatment for indian visceral leishmaniasis: conventional versus lipid formulations. *Clinical Infectious Diseases* **2004**, *38*, 377. [CrossRef] [PubMed]
- ¹² Sundar, S.; Olliaro, P. L. Miltefosine in the treatment of leishmaniasis: Clinical evidence for informed clinical risk management. *Therapeutics and Clinical Risk Management* **2007**, *3*, 733. [PubMed]
- ¹³ Sítio da Iniciativa de Medicamentos para Doenças Negligenciadas (DNDi). Disponível em: <http://www.dndi.org/diseases-projects/portfolio.html>. Acesso em: 20 de Março de 2016.
- ¹⁴ Barreiro, E. J.; Fraga, C. A. M. Química Medicinal: As Bases Moleculares da Ação dos Fármacos. ArtMed Editora Ltda, Porto Alegre, RS, **2001**, p. 5.
- ¹⁵ Oliveira, L. F.; Schubach, A. O.; Martins, M. M.; Passos, S. L.; Oliveira, R. V.; Marzochi, M. C.; Andrade, C. A. Systematic review of the adverse effects of cutaneous leishmaniasis treatment in the New World. *Acta Tropica* **2011**, *118*, 87. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁶ Olliaro, P. L.; Bryceson, A. D. Practical progress and new drugs for changing patterns of leishmaniasis. *Parasitology Today* **1993**, *9*, 323. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁷ Fonseca-Silva, F.; Inacio, J. D. F.; Canto-Cavaleiro, M. M.; Almeida-Amaral, E. E.; Menna-Barreto, R. F. S. Oral Efficacy of Apigenin against Cutaneous Leishmaniasis: Involvement of Reactive Oxygen Species and Autophagy as a Mechanism of Action. *PLoS neglected tropical diseases*, **2016**, *10*, e0004442. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁸ Frézard, F.; Demicheli, C.; Ribeiro, R. Pentavalent antimonials: new perspectives for old drugs. *Molecules* **2009**, *14*, 2317. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁹ Ouellette, M.; Légaré, D.; Haimeur, A.; Grondin, K.; Roy, G.; Brochu, C.; Padopaulou, B. ABC transporters in *Leishmania* and their role in drug resistance. *Drug Resistance Updates* **1998**, *1*, 43. [CrossRef] [PubMed]
- ²⁰ Ashutosh, S. S.; Goyal, N. Molecular mechanisms of antimony resistance in *Leishmania*. *Journal of Medical Microbiology* **2007**, *56*, 143. [CrossRef] [PubMed]
- ²¹ Walker, J.; Gongora, R.; Vasquez, J. J.; Drummelsmith, J.; Burchmore, R.; Roy, G.;

- Ouellette, M.; Gomez, M. A.; Saravia, N. G. Discovery of factors linked to antimony resistance in *Leishmania panamensis* through differential proteome analysis. *Molecular and Biochemical Parasitology* **2012**, *183*, 166. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²² Chai, Y.; Yan, S.; Wong, I. L. K.; Chow, L. M. C.; Sun, H. Complexation of antimony (Sb^V) with guanosine 5'-monophosphate and guanosine 5'-diphospho-d-mannose: formation of both mono- and bis-adducts. *Journal of Inorganic Biochemistry* **2005**, *99*, 2257. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²³ Demicheli, C.; Frézard, F.; Lecouvey, M.; Garnier-Suillerot, A. Antimony(V) complex formation with adenine nucleosides in aqueous solution. *Biochimica et Biophysica Acta* **2002**, *1570*, 192. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²⁴ Raychaudhury, B.; Banerjee, S.; Gupta, S.; Singh, R. V.; Datta, S. C. Antiparasitic activity of a triphenyl tin complex against *Leishmania donovani*. *Acta Tropica* **2005**, *95*, 1. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²⁵ Dzamitika, S. A.; Falcão, C. A. B.; De Oliveira, F. B.; Marbeuf, C.; Garnier-Suillerot, A.; Demicheli, C.; Rossi-Bergmann, B.; Frézard, F. Role of residual Sb(III) in meglumine antimoniate cytotoxicity and MRP1-mediated resistance. *Chemico-Biological Interactions* **2006**, *160*, 217. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²⁶ Sereno, D.; Holzmüller, P.; Lemestre, J. L. Efficacy of second line drugs on antimony-resistant amastigotes of *Leishmania infantum*. *Acta Tropica* **2000**, *74*, 25. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²⁷ Headley, J. V.; Yong, M. S.; Brooks, P. W.; Phillips, A. Fast-Atom bombardment mass spectrometry of the organometallic parasiticide, meglumine antimonite. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **1995**, *9*, 372. [[CrossRef](#)]
- ²⁸ Uekama, K.; Hirayama, F.; Irie, T. Cyclodextrin-based controlled drug release system. *Advanced Drug Delivery Reviews* **1999**, *36*, 125. [[CrossRef](#)]
- ²⁹ Hashim, F. A.; Khalil, E. A.; Ismail, A.; El Hassam, A. M. Apparently successful treatment of two cases of post Kala-azar dermal leishmaniasis with liposomal amphotericin B. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **1995**, *89*, 440. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³⁰ Frézard, F.; Schettini, D. A.; Rocha, O. G. F.; Demicheli, C. Lipossomas: propriedades físico-químicas e farmacológicas, aplicações na quimioterapia à base de antimônio. *Química Nova* **2005**, *28*, 511. [[CrossRef](#)]
- ³¹ Gailliot, P. L.; Process for the manufacture of new organic antimony compounds GB Patent 533354, **1941**. (CA 36:6309)
- ³² Joan, F. B.; Concepcio, M. C. New procedure for the preparation of antimonite acid derivatives applicable in the treatment of canine leishmaniasis. *ES Patent 2.050.614* **1994**. (CA 122:196972)
- ³³ Demicheli, C. Processo para preparação de derivados do ácido antimônico utilizados no tratamento de protozooses. *BR 9907575* **2001**. (CA 137:52467)
- ³⁴ Demicheli, C.; Frezard, F. Process for preparation of Sb⁵⁺ derivs. *BR 2001006305* **2003**. (CA 139:190093)
- ³⁵ Demicheli, C.; Ochoa, R.; Lula, I. S.; Gozzo, F. C.; Eberlin, M.; Frézard, F. Pentavalent organoantimonial derivatives: two simple and efficient synthetic methods for meglumine antimonite. *Applied Organometallic Chemistry* **2003**, *17*, 226. [[CrossRef](#)]
- ³⁶ De Moraes-Teixeira, E.; De Carvalho, A. S.; Da Costa, J. C. S.; Duarte, S. L.; Mendonça, J. S.; Boechat, N.; Rabello, A. In vitro and in vivo activity of meglumine antimoniate produced at Farmanguinhos-Fiocruz, Brazil, against *Leishmania (Leishmania) amazonensis*, *L. (L.) chagasi* and *L. (Viannia) braziliensis*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **2008**, *10*, 358. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³⁷ Boechat, N.; Carvalho, A. S.; Duarte, S. L.; Costa, J. C. S. Um novo processo para a obtenção do antimoniate de meglumina, visando a produção do medicamento genérico. *Revista Virtual de Química* **2015**, *7*, 684. [[Link](#)]
- ³⁸ Wang, S.; Process for preparing sodium stibogluconate. CN 1634846, **2005**. (CA 144:255977)
- ³⁹ Frézard, F.; Martins, P. S.; Barbosa, M. C. M.; Pimenta, A. M. C.; Ferreira, W. A.; de Melo, J. E.; Mangrum, J. B.; Demicheli, C. New insights into the chemical structure and composition of the pentavalent antimonial

- drugs, meglumine antimonate and sodium stibogluconate. *Journal of Inorganic Biochemistry* **2008**, *102*, 656. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴⁰ Bern, C.; Adler-Moore, J.; Berenguer, J.; Boelaert, M.; den Boer, M.; Davidson, R. N.; Figueras, C.; Gradoni, L.; Kafetzis, D. A.; Ritmeijer, K.; Rosenthal, E.; Royce, C.; Russo, R.; Sundar, S.; Alvar, J. Liposomal amphotericin B for the treatment of visceral leishmaniasis. *Clinical Infectious Diseases* **2006**, *43*, 917. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴¹ Lemke, A.; Kiderlen, A. F.; Kayser, O. Amphotericin B. *Applied Microbiology and Biotechnology* **2005**, *68*, 151. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴² Barratt, G.; Bretagne, S. Optimizing efficacy of amphotericin B through nanomodification. *The International Journal of Nanomedicine* **2007**, *2*, 301. [[PubMed](#)]
- ⁴³ Amidon, G.; Lennernäs, H.; Shah, V.; Crison, J. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of *in vitro* drug product dissolution and *in vivo* bioavailability. *Pharmaceutical Research* **1995**, *12*, 413. [[CrossRef](#)]
- ⁴⁴ Louria, D. B. Some aspects of the absorption, distribution, and excretion of amphotericin B in man. *Antibiotic medicine & clinical therapy* **1958**, *5*, 295. [[PubMed](#)]
- ⁴⁵ Croft, S. L.; Coombs, G. H. Leishmaniasis – current chemotherapy and recent advances in the search for novel drugs. *Trends in Parasitology* **2003**, *19*, 502. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴⁶ Douglas, J. B.; Healy, J. K. Nephrotoxic effects of amphotericin B, including renal tubular acidosis. *The American Journal of Medicine* **1969**, *46*, 154. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴⁷ Joly, V.; Saint-Pierre-Chazalet, M.; Saint-Julien, L.; Bolard, J.; Carbon, C.; Yeni, P. Inhibiting cholesterol synthesis reduces the binding and toxicity of amphotericin B against rabbit renal tubular cells in primary culture. *The Journal of Infectious Diseases* **1992**, *165*, 337. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴⁸ Andres, E.; Tiphine, M.; Letscher-Bru, V.; Herbrecht, R. Nouvelles formes lipidiques de l'amphotéricine B. *Revue de la littérature. La Revue de Médecine Interne* **2001**, *22*, 141. [[CrossRef](#)]
- ⁴⁹ Antoniadou, A.; Dupont, B. Lipid formulations of amphotericin B: where are we today? *Journal de Mycologie Médicale* **2005**, *15*, 230. [[CrossRef](#)]
- ⁵⁰ Purkait, B.; Kumar, A.; Nandi, N.; Sardar, A. H.; Das, S.; Kumar, S.; Pandey, K.; Ravidas, V.; Kumar, M.; De, T.; Singh, D.; Das, P. Mechanism of amphotericin B resistance in clinical isolates of *Leishmania donovani*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **2012**, *56*, 1031. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵¹ Hazen, E. L.; Brown, R. Two antifungal agents produced by a soil actinomycete. *Science* **1950**, *112*, 423. [[PubMed](#)]
- ⁵² Brown, R.; Hazen, E. L. Effect of fungicidin (Nystatin) in mice injected with lethal mixtures of Aureomycin and *Candida albicans*. *Science* **1953**, *117*, 609. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵³ Carreira, E. M.; Cereghetti, D. M. Amphotericin B: 50 years of chemistry and biochemistry. *Synthesis* **2006**, *6*, 914. [[CrossRef](#)]
- ⁵⁴ Borowski, E.; Chéron, M.; Cybulska, B.; Mazerski, J.; Grzybowska, J.; Czerwiński, A. Quantitative structure-activity relationships in amphotericin B derivatives. *Biochemical Pharmacology* **1988**, *37*, 827. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵⁵ Taylor, A. W.; Costello, B. J.; Hunter, P. A. MacLachlan, W. S.; Shanks, C. T. Synthesis and antifungal selectivity of new derivatives of amphotericin B modified at the C-13 position. *The Journal of Antibiotics* **1993**, *46*, 486. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵⁶ Rogers, B. N.; Selsted, M. E.; Rychnovsky, S. D. Synthesis and biological evaluation of non-polyene analogs of amphotericin B. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **1997**, *7*, 3177. [[CrossRef](#)]
- ⁵⁷ Martinez, R. Atualização no uso de agentes antifúngicos. *Jornal Brasileiro de Pneumologia* **2006**, *32*, 449. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵⁸ Christiansen, K. J.; Bernard, E. M.; Gold, J. W.; Armstrong, D. Distribution and activity of amphotericin B in humans. *Journal of*

Infected Diseases **1985**, *152*, 1037. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

⁵⁹ Nucci, M.; Loureiro, M.; Silveira, F.; Casali, A. R.; Bouzas, L. F.; Velasco, E.; Spector, N.; Pulcheri, W. Comparison of the toxicity of amphotericin B in 5% dextrose with that of amphotericin B in fat emulsion in a randomized trial with cancer patients. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **1999**, *43*, 1445. [[PubMed](#)]

⁶⁰ Janknegt, R.; de Marie, S.; Bakker-Woudenberg, I. A.; Crommelin, D. J. A. Liposomal and lipid formulations of amphotericin B. Clinical pharmacokinetics. *Clinical Pharmacokinetics* **1992**, *23*, 279. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

⁶¹ a) Masamune, S.; Kaiho, T.; Garvey, D. S. Aldol methodology: synthesis of versatile intermediates, 3-hydroxy-2-vinylcarbonyl compounds. *Journal of the American Chemical Society* **1982**, *104*, 5521. [[CrossRef](#)]

b) Boschelli, D.; Ellingboe, J. W.; Masamune, S. Aldol methodology: synthesis of syn-3-hydroxy-2-vinylcarbonyl compounds. *Tetrahedron Letters* **1984**, *25*, 3395. [[CrossRef](#)]

c) Masamune, S.; Ma, P.; Okumoto, H.; Ellingboe, J. W.; Ito, Y. Synthesis of amphotericin B. 1. Fragment A of the aglycon. *The Journal of Organic Chemistry* **1984**, *49*, 2834. [[CrossRef](#)]

d) Boschelli, D.; Takemasa, T.; Nishitani, Y.; Masamune, S. Synthesis of amphotericin B. 2. fragment C-D of the aglycone. *Tetrahedron Letters* **1985**, *26*, 5239. [[CrossRef](#)]

e) Kennedy, R. M.; Abiko, A.; Takemasa, T.; Okumoto, H.; Masamune, S. A synthesis of 19-dehydroamphoteronolide b. *Tetrahedron Letters* **1988**, *29*, 451. [[CrossRef](#)]

⁶² a) Nicolaou, K. C.; Daines, R. A.; Uenishi, J.; Li, W. S.; Papahatiji, D. P.; Chakraborty, T. K. Total synthesis of amphoteronolide B and amphotericin B. 1. Strategy and stereocontrolled construction of key building blocks. *Journal of the American Chemical Society* **1988**, *110*, 4672. [[CrossRef](#)]

b) Nicolaou, K. C.; Daines, R. A.; Chakraborty, T. K.; Ogawa, Y. Total synthesis of amphoteronolide B and amphotericin B. 2. Total synthesis of amphoteronolide B. *Journal of the American Chemical Society* **1988**, *110*, 4685. [[CrossRef](#)]

c) Nicolaou, K. C.; Daines, R.

A.; Ogawa, Y.; Chakraborty, T. K. Total synthesis of amphotericin B. 3. The final stages. *Journal of the American Chemical Society* **1988**, *110*, 4696. [[CrossRef](#)]

⁶³ a) McGarvey, G. J.; Williams, J. M.; Hiner, R. N.; Matsubara, Y.; Oh, T. L-Aspartic acid in acyclic stereoselective synthesis. Synthetic studies on amphotericin B. *Journal of the American Chemical Society* **1986**, *108*, 4943. [[CrossRef](#)]

b) McGravey, G. J.; Mathys, J. A.; Wilson, K. J.; Overly, K. R.; Buonora, P. T.; Spoor, P. G. Synthetic studies on the polyene macrolide antibiotics. Development of syn- and anti-1,3-diol subunits and assembly of the polyacetate region of amphotericin B. *The Journal of Organic Chemistry* **1995**, *60*, 7778. [[CrossRef](#)]

c) McGravey, G. J.; Mathys, J. A.; Wilson, K. J. Synthesis of amphotericin B. A convergent strategy to the polyol segment of the heptaene macrolide antibiotics. *The Journal of Organic Chemistry* **1996**, *61*, 5704. [[CrossRef](#)]

d) Williams, J. M.; McGarvey, G. J. Polyene synthesis: a comparative study. *Tetrahedron Letters* **1985**, *26*, 4891. [[CrossRef](#)]

⁶⁴ a) Hanessian, S.; Sahoo, S. P.; Botta, M. Methodology for the polyene and related antibiotics--enantiospecific synthesis of chiral structural units of amphotericin B from a common progenitor: the C₁-C₁₃ polyol segment. *Tetrahedron Letters* **1987**, *28*, 1143. [[CrossRef](#)]

b) Hanessian, S.; Sahoo, S. P.; Botta, M. Methodology for the polyene and related antibiotics - enantiospecific synthesis of chiral structural units of amphotericin B from a common progenitor: the C₁₄-C₂₀ and C₃₂-C₃₈ segments. *Tetrahedron Letters* **1987**, *28*, 1147. [[CrossRef](#)]

c) Hanessian, S.; Botta, M. Methodology for the polyene and related antibiotics- versatile and practical access to bifunctional all-trans polyolefinic systems. *Tetrahedron Letters* **1987**, *28*, 1151. [[CrossRef](#)]

⁶⁵ Solladié, G.; Hutt, J. Asymmetric synthesis of polyhydroxylated natural products II. The C-1/C-12 unit of amphotericin B. *Tetrahedron Letters* **1987**, *28*, 797. [[CrossRef](#)]

⁶⁶ a) Kruger, J.; Carreira, E. M. Apparent catalytic generation of chiral metal enolates: enantioselective dienolate additions to aldehydes mediated by Tol-BINAP-Cu(II)

- fluoride complexes. *Journal of the American Chemical Society* **1998**, *120*, 837. [CrossRef]
- b) Pagenkopf, B. L.; Kruger, J.; Stojanovic, A.; Carreira, E. M. Mechanistic insights into Cu-catalyzed asymmetric aldol reactions: chemical and spectroscopic evidence for a metalloenolate intermediate. *Angewandte Chemie International Edition* **1998**, *37*, 3124. [CrossRef]
- c) Kruger, J.; Carreira, E. M. Convergent synthesis of the amphotericin polyol subunit employing asymmetric dienolate addition reactions. *Tetrahedron Letters* **1998**, *39*, 7013. [CrossRef]
- ⁶⁷ a) BouzBouz, S.; Cossy, J. Enantioselective allyltitanation. Efficient synthesis of the C1–C14 polyol subunit of amphotericin B. *Organic Letters* **2000**, *2*, 3975. [CrossRef] [PubMed]
- b) Frantz, D. E.; Fassler, R.; Carreira, E. M. Facile enantioselective synthesis of propargylic alcohols by direct addition of terminal alkynes to aldehydes. *Journal of the American Chemical Society* **2000**, *122*, 1806. [CrossRef]
- c) Frantz, D. E.; Fassler, R.; Tomooka, C. S.; Carreira, E. M. The discovery of novel reactivity in the development of C–C bond-forming reactions: in situ generation of zinc acetylides with Zn^{II}/R_3N . *Accounts of Chemical Research* **2000**, *33*, 373. [CrossRef] [PubMed]
- d) El-Sayed, E.; Anand, N. K.; Carreira, E. M. Evidence for formation of silenes strongly influenced by reversed Si=C bond polarity. *Organic Letters* **2002**, *4*, 2605. [CrossRef]
- ⁶⁸ a) Bonini, C.; Chiummiento, L.; Martuscelli, A.; Viggiani, L. A convergent preparation of the C1–C13 fragment of amphotericin B from a single chiral precursor. *Tetrahedron Letters*, **2004**, *45*, 2177. [CrossRef]
- b) Bonini, C.; Racioppi, R.; Righi, G.; Viggiani, L. Polyhydroxylated chiral building block by enzymic desymmetrization of meso 1,3 syn diols. *The Journal of Organic Chemistry* **1993**, *58*, 802. [CrossRef]
- ⁶⁹ Bruckner, R. Stereocontrolled synthesis of A C₁₄–C₂₀ building block for amphotericin B using a novel [2,3] Wittig rearrangement. *Tetrahedron Letters* **1988**, *29*, 5747. [CrossRef]
- ⁷⁰ Balaña-Fouce, R.; Requera, R. M.; Cubría, J. C.; Ordóñez, D. The pharmacology of leishmaniasis. *General Pharmacology* **1998**, *30*, 435. [CrossRef]
- ⁷¹ Kirk, R.; MacDonald, D. R. An Unusual case of leishmaniasis treated with 4:4'-diamidino diphenoxy pentane. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology* **1940**, *34*, 131. [CrossRef]
- ⁷² Phillips, M. A.; Stanley, S. L. Em Gilman GA. Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics; Brunton, L. L.; Chabner, B. A.; Knollmann, B. C., eds.; McGraw Hill: New York, 1991, cap. 7.
- ⁷³ Sundar, S.; Chatterjee, M. Visceral leishmaniasis - current therapeutic modalities. *The Indian Journal of Medical Research* **2006**, *123*, 345. [PubMed]
- ⁷⁴ Bray, P. G.; Barrett, M. P.; Ward, S. A.; de Koning, H. P. Pentamidine uptake and resistance in pathogenic protozoa: past, present and future. *Trends in Parasitology* **2013**, *19*, 232. [CrossRef]
- ⁷⁵ Mishra, J.; Saxena, A.; Singh, S. Chemotherapy of leishmaniasis: past, present and future. *Current Medicinal Chemistry* **2007**, *14*, 1153. [CrossRef]
- ⁷⁶ Basselin, M.; Coombs, G. H.; Barrett, M. P. Putrescine and spermidine transport in *Leishmania*. *Molecular and Biochemical Parasitology* **2000**, *109*, 37. [CrossRef]
- ⁷⁷ Reguera, M. R.; Tekwani, B. L.; Balaña-Fouce, R. Characterization of a methionine adenosyltransferase over-expressing strain in the trypanosomatid *Leishmania donovani*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, **2005**, *140*, 151. [CrossRef]
- ⁷⁸ Basselin, M.; Denise, H.; Coombs, G. H.; Barrett, M. P. Resistance to pentamidine in *Leishmania mexicana* involves exclusion of the drug from the mitochondria. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **2002**, *46*, 3731. [CrossRef] [PubMed]
- ⁷⁹ Bell, C. A.; Hall, J. E.; Kyle, D. E.; Grogil, M.; Ohemeng, K. A.; Allen, M. A.; Tidwell, R. R. Structure-activity relationships of analogs of pentamidine against *Plasmodium falciparum* and *Leishmania mexicana amazonensis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **1990**, *34*, 1381. [CrossRef]
- ⁸⁰ Bakunova, S. M.; Bakunov, S. A.; Patrick, D. A.; Kumar, E. V. K. S.; Ohemeng, K. A.; Bridges,

- A. S.; Wenzler, T.; Barszcz, T.; Jones, S. K.; Werbovets, K. A.; Brun, R.; Tidwell, R. R. Structure–activity study of pentamidine analogues as antiprotozoal agents. *Journal of Medicinal Chemistry* **2009**, *52*, 2016. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁸¹ Verma, M.; Bhandari, A.; Nema, R. K. QSAR Studies of 1,5-di(4-amidinophenoxy)pentane and its analogues for their anti-leishmanial activity. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* **2010**, *2*, 387. [[Link](#)]
- ⁸² Ashley, J. N.; Barber, H. J.; Ewins, A. J.; Newbery, G.; Self, A. D. H. A chemotherapeutic comparison of the trypanocidal action of some aromatic diamidines. *Journal of the Chemical Society* **1942**, 103. [[CrossRef](#)]
- ⁸³ Geratz, J. D.; Whitmore, A. C.; Cheng, M. C. F.; Piantadosi, C. Diamidino- α,ω -diphenoxyalkanes. Structure-activity relations for the inhibition of thrombin, pancreatic kallikrein, and trypsin. *Journal of Medicinal Chemistry* **1973**, *16*, 970. [[CrossRef](#)]
- ⁸⁴ Geratz, J. D.; Cheng, M. C.; Tidwell, R. R. New aromatic diamidines with central α -oxyalkane or α,ω -diphenoxyalkane chains. Structure-activity relations for the inhibition of trypsin, pancreatic kallikrein, and thrombin and for the inhibition of the overall coagulation process. *Journal of Medicinal Chemistry* **1975**, *18*, 477. [[CrossRef](#)]
- ⁸⁵ Xie, G.; Zeng, G. Process research on synthesis of pentamidine. *Guangzhou Huagong* **2013**, *41*, 62. [[Link](#)]
- ⁸⁶ Zhao, Z.; Yang, Y.; Zhang, H.; Xu, X. Process improvement on the synthesis of pentamidine. *Hecheng Huaxue* **2009**, *17*, 642. [[Link](#)]
- ⁸⁷ Tidwell, R. R.; Jones, S. K.; Geratz, J. D.; Ohemeng, K. A.; Cory, M.; Hall, J. E. Analogs of 1,5-bis(4-amidinophenoxy)pentane (pentamidine) in the treatment of experimental *Pneumocystis carinii* pneumonia. *Journal of Medicinal Chemistry* **1990**, *33*, 1252. [[CrossRef](#)]
- ⁸⁸ Tidwell, R. R.; Kllgore, S. G.; Ohemeng, K. A.; Geratz, J. D.; Hall, J. E. Treatment of experimental *Pneumocystis carinii* pneumonia with analogs of pentamidine. *Journal of Protozoology* **1989**, *36*, S74. [[CrossRef](#)]
- ⁸⁹ Guerin, P. J.; Olliaro, P.; Sundar, S.; Boelaert, M.; Croft, S. L.; Desjeux, P.; Wasunna, M. K.; Bryceson, A. D. M. Visceral leishmaniasis: current status of control, diagnosis, and treatment, and a proposed research and development agenda. *The Lancet Infectious Diseases* **2002**, *2*, 494. [[CrossRef](#)]
- ⁹⁰ Sundar, S.; Murray, H. W. Availability of miltefosine for the treatment of kala-azar in India. *Bulletin of the World Health Organization* **2005**, *83*, 394. [[PubMed](#)]
- ⁹¹ Pérez-Victoria, F. J.; Sánchez-Canete, M. A. P.; Seifert, K.; Croft, S. L.; Sundar, S.; Castanys, S.; Gamarro, F. Mechanisms of experimental resistance of *Leishmania* to miltefosine: Implications for clinical use. *Drug Resistance Updates* **2006**, *9*, 26. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁹² Scott, J. A.; Davidson, R. N.; Moody, A. H.; Grant, H. R.; Felmingham, D.; Scott, G. M.; Olliaro, P.; Bryceson, A. D. Aminosidine (paromomycin) in the treatment of leishmaniasis imported into the United Kingdom. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **1992**, *86*, 617. [[CrossRef](#)]
- ⁹³ Soto, J.; Arana, B. A.; Toledo, J.; Rizzo, N.; Vega, J. C.; Diaz, A.; Luz, M.; Gutierrez, P.; Arboleda, M.; Berman, J. D.; Junge, K.; Engel, J.; Sindermann, H. Miltefosine for New World cutaneous leishmaniasis. *Clinical Infectious Diseases* **2004**, *38*, 1266. [[CrossRef](#)]
- ⁹⁴ Soto, J.; Rea, J.; Balderrama, M.; Toledo, J.; Soto, P.; Valda, L.; Berman, J. D. Efficacy of miltefosine for Bolivian cutaneous leishmaniasis. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **2008**, *78*, 210. [[PubMed](#)]
- ⁹⁵ Machado, P. R.; Ampuero, J.; Guimaraes, L. H.; Villasboas, L.; Rocha, A. T.; Schriefer, A.; Sousa, R. S.; Talhari, A.; Penna, G.; Carvalho, E. M. Miltefosine in the treatment of cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania braziliensis* in Brazil: a randomized and controlled trial. *PLOS Neglected Tropical Diseases* **2010**, *4*, e912. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

- ⁹⁶ Eue, I.; Zeising, R.; Arndt, D. Alkylphosphocholine-induced production of nitric oxide and tumor necrosis factor α by U 937 cells. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology* **1995**, *12*, 350. [CrossRef]
- ⁹⁷ Safa, O.; Partin, S. M.; Mathew, A. M.; Bibby, M. C. Morphological and immunological observations on the effects of hexadecylphosphocholine (HPC) in nude mice bearing MT-1 breast cancer xenografts. *Anticancer Research* **1997**, *17*, 37. [PubMed]
- ⁹⁸ Vehmeyer, K.; Scheurich, P.; Eibl, H.; Unger, C. Hexadecylphosphocholine-mediated enhancement of T-cell responses to interleukin 2. *Cellular Immunology* **1991**, *137*, 232. [CrossRef]
- ⁹⁹ Zeisig, R.; Rudolf, M.; Eue, I.; Arndt, D. Influence of hexadecylphosphocholine on the release of tumor necrosis factor and nitroxide from peritoneal macrophages in vitro. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, **1995** *121*, 69. [CrossRef]
- ¹⁰⁰ ¹⁰⁰ Arthur, G.; Bittman, R. The inhibition of cell signaling pathways by antitumor ether lipids. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1998** *1390*, 85. [CrossRef]
- ¹⁰¹ Lux, H.; Heise, N.; Klenner, T.; Hart, D.; Opperdoes, F. R. Ether-lipid (alkyl-phospholipid) metabolism and the mechanism of action of ether-lipid analogues in *Leishmania*. *Molecular and Biochemical Parasitology* **2000**, *111*, 1. [CrossRef]
- ¹⁰² Croft, S. L.; Neal, R. A.; Pendergast, W.; Chan, J. H. The activity of alkyl phosphorylcholines and related derivatives against *Leishmania donovani*. *Biochemical Pharmacology* **1987**, *36*, 2633. [CrossRef]
- ¹⁰³ Croft, S. L.; Seifert, K.; Duchene, M. Antiprotozoal activities of phospholipid analogues. *Molecular and Biochemical Parasitology* **2003**, *126*, 165. [CrossRef]
- ¹⁰⁴ Ravu, R. R.; Chen, Y.; Jacob, M. R.; Pan, X.; Agarwal, A. K.; Khan, S. I.; Heitman, J.; Clark, A. M.; Li, X. Synthesis and antifungal activities of miltefosine analogs. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2013**, *23*, 4828. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁰⁵ Byun, H. S.; Bittman, R. Em Phospholipids Handbook; Cevc, G. ed.; Marcel Dekker: New York, 1993, cap. 1.
- ¹⁰⁶ Brockerhoff, H.; Ayengar, N. K. Improved synthesis of choline phospholipids. *Lipids* **1979**, *14*, 88. [CrossRef]
- ¹⁰⁷ Eibl, H.; Woolley, P. A general synthetic method for enantiomerically pure ester and ether lysophospholipids. *Chemistry and Physics of Lipids* **1988**, *47*, 63. [CrossRef]
- ¹⁰⁸ Paltauf, F.; Hermetter, A. Preparation of alkyl ether and vinyl ether substrates for phospholipases. *Methods in Enzymology* **1991**, *197*, 134. [CrossRef]
- ¹⁰⁹ Hansen, W. J.; Ramaswamy, M.; Wedmid, Y.; Baumann, W. J. An improved procedure for the synthesis of choline phospholipids via 2-bromoethyl dichlorophosphate. *Lipids* **1982**, *17*, 453. [CrossRef]
- ¹¹⁰ Chandrakumar, N. S.; Hajdu, J. Syntheses of enzyme-inhibitory phospholipid analogs. Stereospecific synthesis of 2-amidophosphatidylcholines and related derivatives. *The Journal of Organic Chemistry* **1982**, *47*, 2144. [CrossRef]
- ¹¹¹ Martin, S. F.; Josey, J. A.; Wong, Y. L.; Dean, D. W. General method for the synthesis of phospholipid derivatives of 1,2-O-Diacyl-sn-Glycerols. *The Journal of Organic Chemistry* **1994**, *59*, 4805. [CrossRef]
- ¹¹² Hirt, R.; Berchtold, R. Synthesis of phosphatides. A new synthesis of lecithin. *Pharmaceutica Acta Helveticae*, **1958** *33*, 349. [PubMed]
- ¹¹³ Kanetani, F.; Negoro, K.; Okada, E. Synthesis, and physicochemical and antimicrobial properties of alkylphosphorylcholines. *Nippon Kagaku Kaishi* **1984**, *9*, 1452. [Link]
- ¹¹⁴ Hendrickson, E. K.; Hendrickson, H. S. Efficient synthesis of the cholinephosphate phospholipid headgroup. *Chemistry and Physics of Lipids* **2001**, *109*, 203. [CrossRef]
- ¹¹⁵ Zumbuehl, A.; Zaffalon, L. BODP - a versatile reagent for phospholipid synthesis. *Synthesis* **2011**, *5*, 778. [CrossRef]
- ¹¹⁶ Sundar, S.; Sinha, P. K.; Dixon, S. A.; Buckley, R.; Miller, A. K.; Mohamed, K.; Al-Banna, M. Pharmacokinetics of oral sitamaquine taken with or without food and safety and efficacy for treatment of visceral leishmaniasis: a randomized study in Bihar, India. *The American Journal of Tropical*

- Medicine and Hygiene* **2011**, *84*, 892. [CrossRef] [PubMed]
- ¹¹⁷ Silva-Jardim, I.; Otavio H. Thiemann, O. H.; Anibal, F. F. Leishmaniasis and Chagas Disease Chemotherapy: a Critical Review. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **2014**, *25*, 1810. [CrossRef]
- ¹¹⁸ Menezes, J. P. B.; Guedes, C. E. S.; Petersen, A. L. O. A.; Fraga, D. B. M., Veras, P. S. T. Advances in Development of New Treatment for Leishmaniasis. *BioMed Research International* **2015**, *2015*, 1. [CrossRef] [PubMed]
- ¹¹⁹ Sundar, S.; Rai, M. Treatment of visceral leishmaniasis. *Expert Opinion on Pharmacotherapy* **2005**, *6*, 2821. [CrossRef] [PubMed]
- ¹²⁰ Maarouf, M.; De Kouchkovsky, Y.; Brown, S.; Petit, P. X.; Robert-Gero, M. *In vivo* interference of paromomycin with mitochondrial activity of *Leishmania*. *Experimental Cell Research* **1997**, *232*, 339. [CrossRef] [PubMed]
- ¹²¹ Beale Jr, J. M. Em Wilson and Gisvold's Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry; Beale Jr, J. M.; Block, J. H. eds.; Lippincott-Raven: Philadelphia, 1998, cap. 8.
- ¹²² Shalev, M.; Kondob, J.; Kopelyanskiy, D.; Jaffec, C. L.; Adira, N.; Baasov, T. Identification of the molecular attributes required for aminoglycoside activity against *Leishmania*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2013**, *110*, 13333. [CrossRef] [PubMed]
- ¹²³ Shalev, M.; Rozenberg, H.; Smolkin, B.; Nasereddin, A.; Kopelyanskiy, D.; Belakhov, V.; Schrepfer T.; Schacht, J.; Jaffe, C. L.; Adir, N.; Baasov, T. Structural basis for selective targeting of leishmanial ribosomes: aminoglycoside derivatives as promising therapeutics. *Nucleic Acids Research Advance Access* **2015**, *43*, 8601-8613. [CrossRef] [PubMed]
- ¹²⁴ Vicens, Q.; Westhof, E. Crystal structure of paromomycin docked into the eubacterial ribosomal decoding A site. *Structure* **2001**, *9*, 647. [CrossRef] [PubMed]
- ¹²⁵ Vicens, Q.; Westhof, E. Crystal structure of geneticin bound to a bacterial 16S ribosomal RNA A site oligonucleotide. *Journal of Molecular Biology* **2003**, *326*, 1175. [CrossRef] [PubMed]
- ¹²⁶ Kyogoku, Y.; Mori, S.; Oda, T. Paromomycin. JP51011610B, **1976**. (CA 85:193047)
- ¹²⁷ Toda, S.; Akagawa, A.; Aito, T.; Awaguch, H. Aminoglycoside antibiotics. XV. Chemical conversion of neomycin B to paromycin I, 6'''-deamino-6'''-hydroxyneomycin B and 6'''-deamino-6'''-hydroxy-paromycin I. *The Journal of Antibiotics* **1983**, *36*, 87. [CrossRef] [PubMed]
- ¹²⁸ Davidsona, R. N.; Boerb, M. D.; Ritmeijerb, K. Paromomycin. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **2009**, *103*, 653. [CrossRef] [PubMed]