



Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Alimentos e Nutrição
FACFAN



NATASHA GABRIELLY BATISTA DE ARRUDA
SABRINA SATIE SAKAMOTO

**ATIVIDADE ANTILEISHMANIA DE COMPOSTOS
TETRAHIDRO-2H-1,3,5-TIADIAZINA-6-TIONA 3,5-DISUBSTITUÍDAS**

Campo Grande – MS
2025

NATASHA GABRIELLY BATISTA DE ARRUDA

SABRINA SATIE SAKAMOTO

**ATIVIDADE ANTILEISHMANIA DE COMPOSTOS
TETRAHIDRO-2H-1,3,5-TIADIAZINA-6-TIONA 3,5-DISUBSTITUÍDAS**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Farmácia da
Universidade Federal de Mato Grosso do
Sul, como requisito necessário para a
obtenção do título de Bacharel em
Farmácia.

Orientador (a): Thalita Bachelli Riul

Banca Examinadora

Profa. Dra. Thalita Bachelli Riul

Profa. Dra. Alessandra Gutierrez de Oliveira

Profa. Dra. Amarith Rodrigues das Neves

Campo Grande – MS

2025

AGRADECIMENTOS

Elaborar este trabalho, bem como concluir o curso de Farmácia, é algo que não marca apenas meu esforço, mas também todo o amor e apoio de pessoas especiais na minha vida. Gostaria de expressar a minha gratidão e carinho a todos aqueles que, de alguma forma, participaram da minha caminhada até aqui.

Em primeiro lugar, quero expressar minha gratidão aos meus pais, Ednan Yukiko Soken Sakamoto e Dionísio Shigueyoshi Sakamoto, por me apoiarem e aguentarem todos os meus altos e baixos durante a graduação, além de sempre me incentivarem a correr atrás dos meus objetivos. Gostaria também de agradecer às minhas irmãs, Suzana Sayuri Sakamoto, Silvia Shizue Sakamoto e Silvana Saemi Sakamoto, por sempre torcerem pelo meu crescimento pessoal e profissional. Agradeço as minhas batchans e aos meus ditchans, mesmo que eles não estejam mais presentes fisicamente, por todo encorajamento e colaboração.

Agradeço à minha orientadora, Thalita Bachelli Riul, por todo o tempo e esforço para apoiar-me neste trabalho, assim como por ter acreditado em mim e por ter me recebido com portas abertas, a senhora sempre será uma referência profissional para mim. Gostaria de agradecer às professoras, Alessandra Gutierrez de Oliveira e Amarith Rodrigues das Neves, por terem aceitado participar da banca avaliadora, é uma honra a participação de ambas neste marco.

Agradeço aos meus amigos de faculdade: Fernando Lima Mattiazzi, Natália Kanashiro Miyasato e Natasha Gabrielly Batista de Arruda pela preciosa amizade, apoio e risadas, além de deixarem os dias turbulentos da formação acadêmica mais divertida, vou guardá-los para sempre na minha memória. Em especial, gostaria de agradecer à Natasha Gabrielly Batista de Arruda, por ter aceitado ser minha dupla neste momento tão importante, assim como por toda a paciência com toda a minha teimosia, com certeza tudo foi mais especial tendo você ao meu lado neste processo.

Agradeço também aos meus amigos que conheci pelo taiko: Alessandra Lumy Okama, César Akio Kitaguti Moura, Juliana Keiko Goya Miyassato, Juliana Marina Carvalho Puga Barbosa, Melissa Ayuri Uemura Kitaguti, Millene Riye Nakasato, Náthalie Yumi Okama, Paulo Henrique Ribeiro e Sidney Kenzo Goya Miyassato; por todo o apoio, por me fazerem rir até minha barriga doer e por me mostrarem que amizade pode sim ser algo leve.

Agradeço a minha prima, ou melhor, minha alma gêmea, Michele Tiemi Imazaki, por sempre vibrar por mim e por sempre estar presente na minha vida, até mesmo nos momentos ruins, nosso elo vai muito além do que um parentesco sanguíneo. Agradeço também a minha prima, Jacqueline Toma Soken, por todo o apoio e amor mesmo à distância.

Agradeço ao meu cunhado favorito, Lucas Silva Gutterres, por sempre me fazer rir, me perturbar em qualquer oportunidade e por todo o apoio, muito obrigada por cuidar da minha família.

Agradeço a noiva da minha prima, Ana Letícia da Silva Santos, pela amizade e por conversar sobre a vida comigo, obrigada pelo zelo com a minha prima.

Agradeço ao meu namorado, Gregor Gonçalves de Brito Inácio, por sempre me incentivar e acreditar no meu potencial. Obrigada por todo o amor, paciência, por sempre me emprestar o notebook para eu fazer o TCC e por cuidar tão bem de mim.

Muito obrigada a todos que, mesmo não tendo o nome citado neste agradecimento, cooperaram para a conclusão de mais uma etapa da minha vida.

- Sabrina

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me guiar em todas as minhas escolhas e por mostrar que os Seus planos são maiores do que os meus.

A minha mãe, Mirian Grazielle da Silva Batista, pelo apoio, ajuda, carinho e compreensão em todos os momentos da graduação. Por sempre acreditar em mim, por cada gesto de cuidado e por todas as vezes em que colocou os meus sonhos antes dos seus. Chegar até o final da graduação não seria possível sem você.

Aos meus avós, José Ferreira Batista e Maria Francisca da Silva Batista, por sempre me mostrarem o caminho certo, pelas palavras de conforto, conselhos, caronas e pelas marmitas sempre preparadas com carinho. Sou muito grata por ter crescido rodeada pelo cuidado de vocês, que sempre acreditaram no meu potencial e celebraram minhas conquistas como se fossem suas.

Ao meu tio, Fábio da Silva Batista, que sempre apoiou e incentivou os meus estudos, acreditando que eu poderia ir muito mais longe do que eu imaginava. Agradeço também às minhas primas, Emanuely de Souza Batista e Yasmin de Souza Batista, que sempre vibraram com cada conquista minha e estiveram presentes para me dar apoio e risadas quando eu precisava.

Ao meu melhor amigo da graduação, que hoje posso chamar de namorado, Fernando Lima Mattiazzi, por sempre ser o meu porto seguro e quem torna os meus dias mais alegres. Agradeço pelas horas de estudo, pelas explicações pacientes e por sempre me salvar com as químicas. Além de todo amor, apoio, força e por sempre acreditar na minha capacidade, mesmo quando eu me sentia insegura. Obrigada por ser meu companheiro de estudos, de vida e de sonhos.

As minhas amigas da faculdade, Natália Kanashiro Miyasato e Sabrina Satie Sakamoto, que fizeram dos meus dias na graduação muito mais leves, divertidos e inesquecíveis. Obrigada pelas risadas e palhaçadas mesmo nos dias mais corridos e difíceis, pelos trabalhos feitos de última hora, pelas madrugadas estudando para prova juntas, pelas conversas sinceras e por todos os momentos em que estiveram ao meu lado. São amigas que desejo carregar comigo muito além da graduação.

As minhas amigas da época de escola, Jhenifer Oliveira Maciel, Khettelyn Diovanna Rosa de Souza Camilo e Milena Bitencourt Ferreira, agradeço por fazerem parte da minha história e por sempre torcerem por mim, mesmo cada uma seguindo

seu caminho. A amizade de vocês continua sendo um lugar de conforto e lembranças boas.

Agradeço também à minha dupla de TCC, Sabrina Satie Sakamoto, por ter aceitado dividir esse projeto comigo, sua parceria tornou tudo mais leve e especial. Agradeço pela paciência e dedicação, ter você ao meu lado fez toda a diferença.

A minha orientadora, Thalita Bachelli Riul, pela orientação dedicada, paciência e esforço por esse trabalho. Sou muito grata por todo o tempo que dedicou ao nosso trabalho, mesmo diante de tantas demandas que sempre carrega. Agradeço também às professoras Alessandra Gutierrez de Oliveira e Amarith Rodrigues das Neves, por terem aceitado participar como banca examinadora, é uma honra a presença de ambas.

- Natasha

RESUMO

De acordo com a Organização Mundial da Saúde, as leishmanioses fazem parte das Doenças Tropicais Negligenciadas (DTN), das quais milhares de pessoas correm o risco de se infectar anualmente, sendo consideradas um grande problema mundial para a saúde pública. As leishmanioses são um grupo de doenças parasitárias causadas por diferentes espécies do protozoário do gênero *Leishmania*, possuindo três apresentações clínicas, sendo elas: leishmaniose visceral, cutânea e mucocutânea. Os tratamentos farmacológicos disponíveis no mercado são de alto custo e de uso prolongado, além de apresentarem alta toxicidade e terem a via de administração parenteral principalmente, o que leva à baixa adesão terapêutica pelo paciente e causam vários efeitos colaterais. Desse modo, surge a necessidade do estudo e pesquisa de novos medicamentos capazes de tratar a doença, visando também amenizar as fragilidades decorrentes da farmacoterapia. Os compostos heterocíclicos derivados de tiadiazina têm sido amplamente estudados por demonstrarem atividade farmacológica promissora anti-parasitária e anti-inflamatória. O objetivo deste trabalho foi analisar a atividade antileishmania *in vitro* de 12 moléculas inéditas da classe das tiadiazinas, onde 6 apresentaram resultados satisfatórios (Ta81, Ta100, Ta78, B1, Ta77 e Ta80), nas quais possuem em N-3 hidrocarbonetos, anel benzênico e éter, e em N-5 um ácido hexanóico que têm se mostrado um grupo funcional promissor com boa atividade anti-parasitária. A potencial atividade antileishmania dessas moléculas pode contribuir com o desenvolvimento futuro de um novo medicamento para o tratamento das leishmanioses, com menores problemas voltados para a adesão, custo e saúde do paciente.

Palavras-chave: Leishmaniose; *Leishmania amazonensis*; Leishmaniose Cutânea; Análogos da tiadiazina.

ABSTRACT

According to the World Health Organization (WHO), leishmaniasis is one of the neglected tropical diseases (NTDs). Thousands of people are at risk of contracting this disease each year, making it a major global public health problem. Leishmaniasis is a group of parasitic diseases caused by various species of the protozoan parasite *Leishmania*. There are three types of leishmaniasis: visceral, cutaneous, and mucocutaneous. Currently available pharmacological treatments are expensive, require prolonged use, and are highly toxic. They are also mainly administered parenterally, leading to low therapeutic adherence and several side effects. Thus, there is a need to study and research new drugs capable of treating the disease and mitigating the weaknesses resulting from pharmacotherapy. Thiadiazine-derived heterocyclic compounds have been extensively studied for their anti-parasitic and anti-inflammatory activity. This study aimed to analyze the *in vitro* antileishmania activity of a group of thiadiazine molecules, in which, of the 12 molecules tested, only 6 presented satisfactory results (Ta81, Ta100, Ta78, B1, Ta77 and Ta80), which all have lipophilic substituents at N3, and hexanoic acid at N5, with the latter having shown promising results regarding its antiparasitic activity. These molecules' potential antileishmania activity may contribute to the development of a new leishmaniasis drug with fewer issues related to cost, adherence, and patient health.

Keywords: Leishmaniasis; *Leishmania amazonensis*; Cutaneous Leishmaniasis; Analogues Thiadiazine.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Ciclo de vida de <i>Leishmania</i>	15
Figura 2 - Estrutura química da tiadiazina (3,5-dimetiltetrahydro-2H-1,3,5-tiadiazina-2-tiona) e dos derivados THTT.....	19
Figura 3 - Estrutura química dos compostos ácidos 1,3,5-tiadiazina-hexanóicos....	22
Figura 4 - Atividade antileishmania de 1tetrahydro-2H-1,3,5-tiadiazina-6-tiona 3,5-disubstituídas.....	25
Figura 5 - Avaliação da citotoxicidade das tetrahydro-2H-1,3,5-tiadiazina-6-tiona 3,5-disubstituídas.....	26
Figura 6 - Atividade antileishmania e citotoxicidade de anfotericina B.....	27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resultados de CI_{50} , CC_{50} e índice de seletividade das amostras 1,3,5-tiadiazinas	27
--	----

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIACÕES

Abreviações

CC₅₀ Concentração Citotóxica de 50% das células

CI₅₀ Concentração Inibitória de 50% das células

LC Leishmaniose Cutânea

LMC Leishmaniose Mucocutânea

LV Leishmaniose Visceral

IS Índice de Seletividade

THTT Tetrahydro-2H-1,3,5-tiadiazina-6-tiona

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1. Leishmanioses.....	13
2.2. Biologia.....	14
2.3. Fisiopatologia.....	15
2.4. Diagnóstico.....	16
2.5. Tratamento.....	16
2.6. Tiadiazinas.....	19
3. OBJETIVOS.....	21
3.1. Objetivo Geral.....	21
3.2. Objetivos Específicos.....	21
4. METODOLOGIA.....	21
4.1. Cultura de parasitas.....	22
4.2. Ensaios anti-promastigotas.....	23
4.3. Ensaios de citotoxicidade in vitro.....	23
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	24
6. CONCLUSÃO.....	31
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	32

1. INTRODUÇÃO

As leishmanioses são classificadas como doenças parasitárias tropicais de grande preocupação de saúde pública mundial, possuindo mais de 20 espécies de *Leishmania* responsáveis pela parasitose (CORMAN; MCNAMARA; BAKOWSKI, 2023). Os vetores são as fêmeas infectadas de flebotomíneos dos gêneros *Phlebotomus* e *Lutzomyia* (CORMAN; MCNAMARA; BAKOWSKI, 2023), popularmente conhecidos como mosquito-palha, palhinha, tatuquira e birigui (WHO, 2023). A leishmaniose cutânea (LC) é presente em 22 países, dos quais é endêmica em 19 deles, como o Brasil, Costa Rica, México, Paraguai e Peru, por exemplo (OPAS, 2025). No Brasil, a distribuição da doença é predominante nas regiões Norte, Nordeste, Centro-Oeste e Sudeste (OPAS, 2024).

Há uma série de manifestações clínicas que levam ao diagnóstico de suas três principais formas: leishmaniose visceral (LV), leishmaniose cutânea (LC) e leishmaniose mucocutânea (LMC) (CORMAN; MCNAMARA; BAKOWSKI, 2023). Estima-se que anualmente há cerca de 1 milhão de novos casos de LC no Brasil, nos quais 12 milhões de pessoas possuem a infecção ativa (FERMIANO et al., 2024).

Os obstáculos agravantes para o controle do vetor são sua capacidade de realizar o ciclo de vida durante todo o ano, principalmente em localidades tropicais, como a região Centro-Oeste (GONTIJO; DE CARVALHO, 2003); além de que as populações com situação socioeconômica mais desfavorecida possuem dificuldade de acesso à inseticidas, repelentes e roupas de proteção para profilaxia (CORMAN; MCNAMARA; BAKOWSKI, 2023).

O tema foco do estudo é a LC por *Leishmania amazonensis*, a qual é comum no continente americano, asiático e europeu (CORMAN; MCNAMARA; BAKOWSKI, 2023). As cicatrizes decorrentes das lesões cutâneas da LC, que podem ser permanentes, ainda fomentam a incapacidade grave e até mesmo o estigma daqueles que as possuem, principalmente em mulheres (WHO, 2023).

O tratamento para leishmanioses é baseado na apresentação clínica da doença e na condição de saúde do paciente, entretanto, mesmo com a farmacoterapia, o parasita possui a capacidade de permanecer no hospedeiro, reincidindo em casos de imunossupressão ou resistência aos medicamentos disponíveis (WHO, 2023). A terapêutica é de notável alto custo, uso prolongado, alta toxicidade, diversos efeitos colaterais e a maioria por via de administração

parenteral, levando à baixa adesão terapêutica, em consequência de ser desconfortável aos usuários (CHAKRAVARTY; SUNDAR, 2010). Em virtude desse contexto, entende-se que a pesquisa e descoberta de possíveis novos fármacos com atividade antileishmania é fundamental. Durante as últimas décadas, vários grupos de pesquisa relataram atividades biológicas de amplo perfil de compostos heterocíclicos, incluindo compostos contendo o anel 1,3,5-tiadiazina, cujas atividades descritas incluem antimicrobiana, anti-helmíntica, antiprotozoária (incluindo antileishmania) e antiviral, o que nos levou à investigação da atividade antileishmania de novos compostos do tipo 1,3,5-tiadiazina.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Leishmanioses

A leishmaniose é uma infecção parasitária de interesse em saúde pública mundial causada por protozoários da ordem Kinetoplastida/Trypanosomatidae e do gênero *Leishmania*, transmitida por meio da picada de fêmeas de insetos flebotomíneos dos gêneros *Phlebotomus* e *Lutzomyia* infectados com o parasito (NEVES, 2016). Os principais fatores de risco da doença são condições socioeconômicas, desnutrição, mobilidade populacional e mudanças climáticas (WHO, 2023). A leishmaniose cutânea (LC) e a leishmaniose mucocutânea (LMC) são consideradas uma doença dermatológica não contagiosa, entretanto, apresentam grande impacto na vida dos acometidos pela enfermidade (SILVEIRA et al., 2024), visto que as úlceras na pele podem contribuir para danos psicológicos, sociais e econômicos (DA CRUZ et al., 2023).

Mais de 20 espécies do protozoário *Leishmania* são capazes de causar a doença, cujos achados clínicos permitem dividi-la em três subtipos: leishmaniose cutânea (LC), leishmaniose visceral (LV) e leishmaniose mucocutânea (LMC) (CORMAN et al., 2023). Dentre as espécies envolvidas na notificação de casos de leishmaniose no Brasil, destacam-se a *Leishmania braziliensis*, *Leishmania amazonensis*, *Leishmania guyanensis*, *Leishmania naiffi*, *Leishmania shawi* e *Leishmania lainsoni*. As manifestações clínicas majoritárias da LC são lesões cutâneas no local da picada do vetor infectado, podendo evoluir desde uma pápula até posteriormente uma lesão ulcerosa (DE SOUZA et al., 2024).

Os flebotomíneos são insetos invertebrados de 2 a 3 mm de comprimento (WHO, 2023). A fêmea possui hábitos noturnos e silenciosos, é hematófaga e

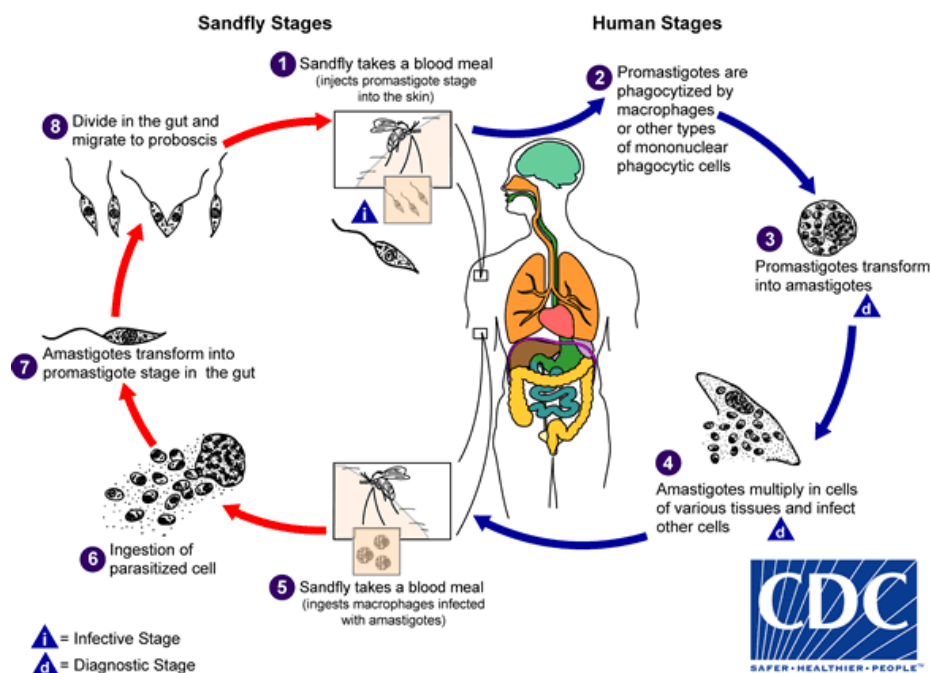
adquire/transmite o protozoário da leishmaniose para humanos ou animais domésticos e silvestres através da picada, em que os cães, marsupiais e camundongos são exemplos de importantes reservatórios da patologia (MANN et al., 2021). Um obstáculo agravante para o controle do vetor é sua capacidade de realizar o ciclo de vida durante todo o ano, principalmente em localidades tropicais (GONTIJO; DE CARVALHO, 2003). Ademais, o Brasil, a Colômbia e o Peru fazem parte dos 11 países que notificam cerca de 90% dos casos de LC nas Américas (OPAS, 2025).

A descoberta de um composto antileishmania enfrenta como principal desafio o acesso ao parasita dentro das células hospedeiras, assim como sua estabilidade no vacúolo celular, local este onde há a replicação dos parasitas. A utilização de inseticidas, de repelentes e roupas de proteção pode ser medida profilática ao vetor da doença, entretanto a população com situação socioeconômica mais desfavorecida possui dificuldade de acesso, principalmente em áreas endêmicas (CORMAN et al., 2023).

2.2. Biologia

O ciclo de vida do parasito é heteroxênico. No repasto sanguíneo, as formas promastigotas são inoculadas na pele e na corrente sanguínea do hospedeiro, que são responsáveis pela infecção de células do hospedeiro (CDC, 2024). Dentro da célula, o parasita perde seu flagelo livre e seu formato alongado, se convertendo em formas amastigotas (MANN et al., 2021). A célula infectada repleta de parasitos no citoplasma se rompe e libera as amastigotas, que logo são fagocitadas por outras células, espalhando então a infecção pelos tecidos do hospedeiro. Caso um flebotomíneo se alimente de um hospedeiro infectado, o ciclo se mantém contínuo (CDC, 2024). O período de incubação em seres humanos pode variar de 2 a 3 meses, porém pode ser mais curto de 2 semanas ou mais longo de 2 anos (OPAS, 2025).

Figura 1: Ciclo de vida de *Leishmania*



Fonte: Centers for Disease Control and Prevention, Global Health, Division of Parasitic Diseases and Malaria. (CDC, 2024).

2.3. Fisiopatologia

A fisiopatologia da leishmaniose é modulada a partir do contato entre o protozoário e as células do sistema mononuclear fagocitário (SMF) do hospedeiro, como, por exemplo, os macrófagos.

No caso da LC, a interação infecciosa citada acima acarreta uma resposta inflamatória e inibição do SMF, resultando no aparecimento de granulomas e lesões cutâneas características da doença, que geralmente são autolimitadas. O controle da infecção é modulado principalmente pelos linfócitos do tipo Th1, entretanto, a exacerbação do processo inflamatório pode levar à leishmaniose mucocutânea (LMC), identificada por lesões destrutivas na mucosa nasofaríngea e na cartilagem do septo nasal e no palato (CORMAN et al., 2023). Outrossim, pode ocorrer mutilação da orelha quando a doença acomete o pavilhão auricular, lesão muito comum no México, denominada de “*úlcer de los chicleros*” (OPAS, 2025).

A leishmaniose cutânea possui complicações no diagnóstico diferencial pela semelhança a outras patologias, como infecções fúngicas e bacterianas. Além disso, a manifestação clínica da doença depende do sistema imunológico do hospedeiro e da espécie e cepa do parasita envolvidos.

2.4. Diagnóstico

O diagnóstico da LC é realizado em três etapas: exame clínico, parasitológico e histopatológico. O exame clínico baseia-se na observação da presença de lesões típicas da infecção, caracterizadas por úlceras indolores com bordas elevadas e centro necrosado. O exame parasitológico consiste na análise direta do parasita em esfregaços a partir da lesão ou cultura do tecido acometido. O método histopatológico é essencial para confirmar o diagnóstico, revelando granulomas com macrófagos espumosos e presença de parasitos de *Leishmania spp.* (DE SOUZA et al., 2024).

2.5. Tratamento

A terapêutica da leishmaniose apresenta diversas dificuldades, como poucas opções de medicamentos, alta toxicidade, efeitos colaterais severos, resistência dos parasitas, necessidade de monitoramento rigoroso por meio de exames bioquímicos e clínicos, tratamento por longos períodos e dificuldade de adesão por serem, em sua maioria, de administração por via parenteral (CHAKRAVARTY; SUNDAR, 2010).

Os antimoniais pentavalentes são a primeira linha de tratamento para todas as formas clínicas de leishmaniose, sendo o antimoniato de metilglucamina (Glucantime) e o estibogluconato de sódio (Pentostam) as duas formulações mais utilizadas, onde o primeiro é o medicamento de escolha utilizado no Brasil (RATH et al., 2003). É um composto obtido de forma sintética pela junção do ácido antimônico e N-metil-glucamina, sendo essa sintetizada a partir da aminaçãõ redutora da glicose em contato com a metilamina. Esse composto apresenta alta eficácia no tratamento das três formas de apresentação da leishmaniose, causando regressão dos sinais e sintomas clínicos e hematológicos (RATH et al., 2003). Os antimoniais pentavalentes (Sbv) agem como pró-fármacos, sendo reduzidos a SbIII, que é a forma ativa dentro do organismo, sendo um íon metálico que apresenta grande afinidade por estruturas que contém grupos de nitrogênio e sulfidril (ROATT et al., 2020), e sua ação antileishmania está relacionada com interações com biomoléculas contendo sulfidril, incluindo tióis, peptídeos, proteínas e enzimas (FRÉZARD; DEMICHELI; RIBEIRO, 2009). O Ministério da Saúde (2017) recomenda para a manifestação cutânea a dose entre 10 mg e 20 mg SbV (antimônio puro)/kg/dia por 20 dias consecutivos, sendo a administração por via intramuscular ou endovenosa, já para a forma mucocutânea da doença, é recomendada a dose de 20 mg SbV/kg/dia por 30

dias seguidos, podendo haver prolongamento do tratamento até alcançar a cura clínica. O tratamento pode apresentar efeitos colaterais graves que dificultam a adesão do paciente, muitas vezes levando à suspensão do tratamento, dentre eles: artralgia, mialgia, inapetência, náuseas, vômitos, plenitude gástrica, epigastria, pirose, dor abdominal, prurido, febre, fraqueza, cefaleia, tontura, palpitação, insônia, nervosismo, choque pirogênico, edema, herpes zoster e insuficiência renal aguda (BRASIL, 2017).

Caso o paciente não responda ao tratamento com os antimoniais, apresente hipersensibilidade ao antimônio, tenha doenças cardiovasculares ou seja, gestante, existem outras alternativas medicamentosas, como a anfotericina B, pentamidina, paromomicina e a miltefosina, sendo os dois primeiros considerados medicamentos de segunda linha de tratamento.

A anfotericina B é um antibiótico antifúngico de amplo espectro derivado de *Streptomyces nodosus*, considerado um dos medicamentos de segunda linha de tratamento, apresenta alta eficácia nas formas de manifestações mucosas da leishmaniose (BRASIL, 2017). Seu mecanismo de ação é baseado na interação com o ergosterol, componente da membrana celular do parasita, levando à formação de poros na membrana, aumentando sua permeabilidade e provocando a destruição e morte celular (GRAY et al., 2012). A posologia inicial é 0,5 mg/kg/dia em dias alternados, administrado por via endovenosa, aumentando aos poucos até a dose máxima de 1 mg/kg, sem ultrapassar 50 mg. É esperado que a cura clínica aconteça ao atingir as doses totais, sendo 1 a 1,5 g para a forma cutânea e 2,5 a 4 g para as formas mucosas e cutâneo-mucosas. É recomendada a avaliação de exames bioquímicos e clínicos semanais, realizando exames das funções renais (dosagem de ureia, creatinina e K), função hepática (dosagem de bilirrubinas, transaminases e fosfatase alcalina), hemograma e avaliação cardiológica. As reações adversas mais frequentes são febre, anorexia, náusea, vômitos e flebite, podendo ser amenizadas com o uso de medicamentos secundários, como antipiréticos e antieméticos (BRASIL, 2017).

A Anfotericina B lipossomal têm sido uma excelente opção no tratamento de leishmaniose cutânea em relação a não lipossomal, visto que apresenta menos efeitos adversos e toxicidade por ter uma ação direcionada aos macrófagos do fígado, baço e medula óssea. Além de ser possível administrar doses maiores do fármaco por um intervalo de tempo menor. (SUNDAR; CHAKRAVARTY, 2010).

A pentamidina faz parte do grupo das diamidas e apresenta grande eficácia na dose estabelecida pelo Ministério da Saúde (2017), sendo 4 mg/kg/dia, administrada por via intramuscular ao longo de 5 dias ou até semanas, a depender da resposta do paciente. Seu mecanismo de ação não é totalmente conhecido; estudos indicam que estão envolvidos com a inibição da biossíntese de poliamina, a ligação ao sulco menor do DNA e o efeito no potencial da membrana interna mitocondrial (CHAKRAVARTY; SUNDAR, 2010). Apresenta resultados terapêuticos bons para a forma cutânea da doença causada por *Leishmania guyanensis*, fazendo uso da mesma dose e via de administração, com uma redução na frequência de aplicação, sendo 3 aplicações com um intervalo de dois dias entre cada aplicação. Apresenta como efeitos adversos mais frequentes: dor, induração e abscessos estéreis no local da aplicação, além de náuseas, vômitos, tonturas, adinamias, mialgias, cefaleia, hipotensão, lipotímias, síncope, hiperglicemia e hipoglicemia (BRASIL, 2017). É recomendado realizar durante todo o período do tratamento exames bioquímicos para avaliar função renal (dosagem de ureia e creatinina), hepática (dosagem das transaminases, bilirrubina e fosfatase alcalina), glicemia e acompanhamento eletrocardiográfico (antes, durante e após o tratamento). Pode desencadear o aparecimento de diabetes mellitus devido à administração da dose total de 1 grama (BRASIL, 2017).

A paromomicina é um antibiótico aminoglicosídeo de amplo espectro, que atua interagindo na síntese proteica, alterando a fluidez da membrana mitocondrial, levando à inibição da respiração celular (ROATT et al., 2020). É administrada por via intramuscular com uma dose de 20 mg/kg por 21 dias para a manifestação clínica visceral da leishmaniose, se espera a cura clínica entre 6 a 7 meses após o início do tratamento (WIWANITKIT, 2012). Os efeitos adversos mais comuns são dor e calor no local de aplicação (ROATT et al., 2020).

Todos os medicamentos mencionados anteriormente são injetáveis, ao contrário da miltefosina, que é o único tratamento administrado por via oral para tratar da leishmaniose (TEIXEIRA et al., 2023). É um fármaco antineoplásico, que apresenta capacidade de matar parasitas tanto *in vitro*, quanto *in vivo*, atuando por meio da alteração das vias de sinalização e da síntese da membrana celular, resultando na morte celular programada (ROATT et al., 2020). A posologia recomendada pelo Ministério da Saúde é de 2,5 mg/kg/dia durante um período de 28 dias, com dose máxima de 150 mg/dia. Os efeitos adversos mais comuns são

sintomas gastrointestinais, como diarreia, vômitos e náuseas. Recomenda-se realizar exames laboratoriais no 14º dia do tratamento, para avaliar a função renal, hepática e a adesão do paciente, visto que os sintomas gastrointestinais podem reduzir a absorção do fármaco (TEIXEIRA et al.,2023).

2.6. Tiadiazinas

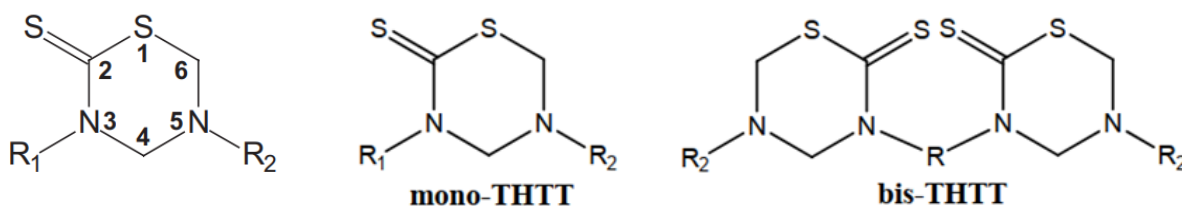
No ano de 1848, os primeiros derivados das tiadiazinas foram sintetizados, mas foi somente em 1994 que a sua estrutura química foi atribuída. (RODRÍGUEZ; SUÁREZ; ALBERICIO, 2012).

As moléculas análogas de tetrahydro-2H-1,3,5-thiadiazina-2-tiona (THTT) têm sido foco de interesse em razão de apresentarem um perfil farmacológico promissor anti-parasitário e anti-inflamatório (SARWAR et al., 2025). A adição de diferentes substituintes na estrutura de THTT leva a modificações de suas propriedades biológicas, podendo melhorar a potência farmacológica e reduzir sua toxicidade. A origem do substituinte em N-3 interfere na atividade antimicrobiana, enquanto a toxicidade depende do substituinte em N-5 (BERMELLO et al., 2011).

Para que a molécula demonstre potencial atividade anti-parasitária deve-se adicionar substituintes lipofílicos na posição N-3 e hidrofílicos na N-5, contribuindo para a otimização da relação estrutura-atividade (RODRÍGUEZ; SUÁREZ; ALBERICIO, 2012). Como forma de potencializar seu efeito biológico anti-parasitário, dois anéis THTT foram incorporados na mesma estrutura molecular, conectados um ao outro através de seu átomo N-3 por uma cadeia principal alifática linear ou ramificada e contendo resíduos carboxialquila em N-5 (CORO et al., 2005), formando bis-THTT (Figura 2).

Figura 2: Estrutura química da tiadiazina

(3,5-dimetiltetrahydro-2H-1,3,5-tiadiazina-6-tiona) e dos derivados THTT.



Fonte: adaptado de Rodríguez et al., 2012.

A atividade biológica antiparasitária observada nos análogos de THTT pode estar relacionada à interação de proteinases de cisteína, enzimas presentes em diversos grupos de parasitas, com os isotiocianatos, substâncias formadas a partir da hidrólise do anel de THTT em meio protico. Também deve-se considerar a ação dos aminoácidos ou dipeptídeos liberados, presentes na posição N-5 do anel de THTT, que interagem com outros alvos moleculares, de forma a potencializar a atividade antiparasitária (BERMELLO et al., 2011).

Em 2012, Rodríguez e colaboradores publicaram um artigo de revisão sobre a síntese de THTT e as principais atividades biológicas relatadas por outros grupos até então. Em relação à atividade antiparasitária, os resultados apresentados no artigo indicam que derivados de THTT apresentam atividade promissora. Foram avaliadas diversas séries de derivados mono-THTT contra *Trypanosoma cruzi*, *Trichomonas vaginalis*, *Leishmania amazonensis*, *L. donovani*, *T. brucei rhodesiensis* e *Plasmodium falciparum*, com destaque para compostos que mantiveram atividade tricomonicida e tripanossomicida mesmo em baixas concentrações, superando referências como metronidazol e nifurtimox em alguns casos. Entretanto, a maioria dos compostos apresentou alta citotoxicidade em células de mamíferos, especialmente em concentrações elevadas, embora alguns derivados tenham mostrado atividade relevante contra formas amastigotas de *Leishmania*, com redução da parasitemia em modelos animais. Para potencializar os efeitos antiprotozoários, foram desenvolvidos derivados bis-THTT, que demonstraram atividade potente contra *T. cruzi* e *L. donovani*, mas com aumento da citotoxicidade, possivelmente relacionado à interferência no metabolismo de poliaminas. O caráter lipofílico ou hidrofílico dos substituintes nas posições N-3 e N-5 foi fundamental para otimizar a relação estrutura-atividade desses compostos (RODRÍGUEZ; SUÁREZ; ALBERICIO, 2012).

Arshad e colaboradores (2018) também produziram uma série de compostos do tipo tetrahydro-2H-1,3,5-tiadiazina-6-tiona 3,5-disubstituídos e avaliaram sua atividade antileishmania em formas promastigotas de *Leishmania major*. Das quatro séries de compostos produzidas, um composto da série A, com uma alquila no N-5 e um éster de ácido carboxílico em N-3 foi o mais ativo, apresentando CI_{50} de 15,48 μ M (ARSHAD et al., 2018).

Por sua vez, Tamanna e colaboradores (2024) produziram uma série de 33 compostos tetrahydro-2H-1,3,5-tiadiazina-6-tiona 3,5-disubstituídos e testaram sua

atividade antileishmania, também contra formas promastigotas de *L. major*. Os compostos mais ativos foram aqueles com um substituinte alquila em N-3 e um ácido carboxílico em N-5, cujas CI_{50} variaram de 2,39 a 1,39 μM (TAMANNA et al., 2024).

Considerando as atividades antileishmania descritas em publicações anteriores, neste trabalho foi analisada a atividade antileishmania de novos compostos tetrahydro-2H-1,3,5-tiadiazina-6-tiona 3,5-disubstituídos contendo ácido hexanóico na posição N-5 e diferentes substituintes na posição N-3.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Avaliar a atividade anti-*Leishmania sp* de 12 compostos tetrahydro-2H-1,3,5-tiadiazina-6-tiona 3,5-disubstituídos inéditos.

3.2. Objetivos Específicos

- Avaliar *in vitro* a viabilidade de formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* frente ao tratamento com os derivados tetrahydro-2H-1,3,5-tiadiazina-6-tiona 3,5-disubstituídos;
- Avaliar *in vitro* a viabilidade da linhagem celular J774A.1 frente ao tratamento com os derivados;
- Determinar as concentrações inibitórias de 50% (CI_{50} e CC_{50}) dos compostos para as duas linhagens celulares;
- Avaliar a seletividade dos compostos de acordo com suas estruturas químicas.

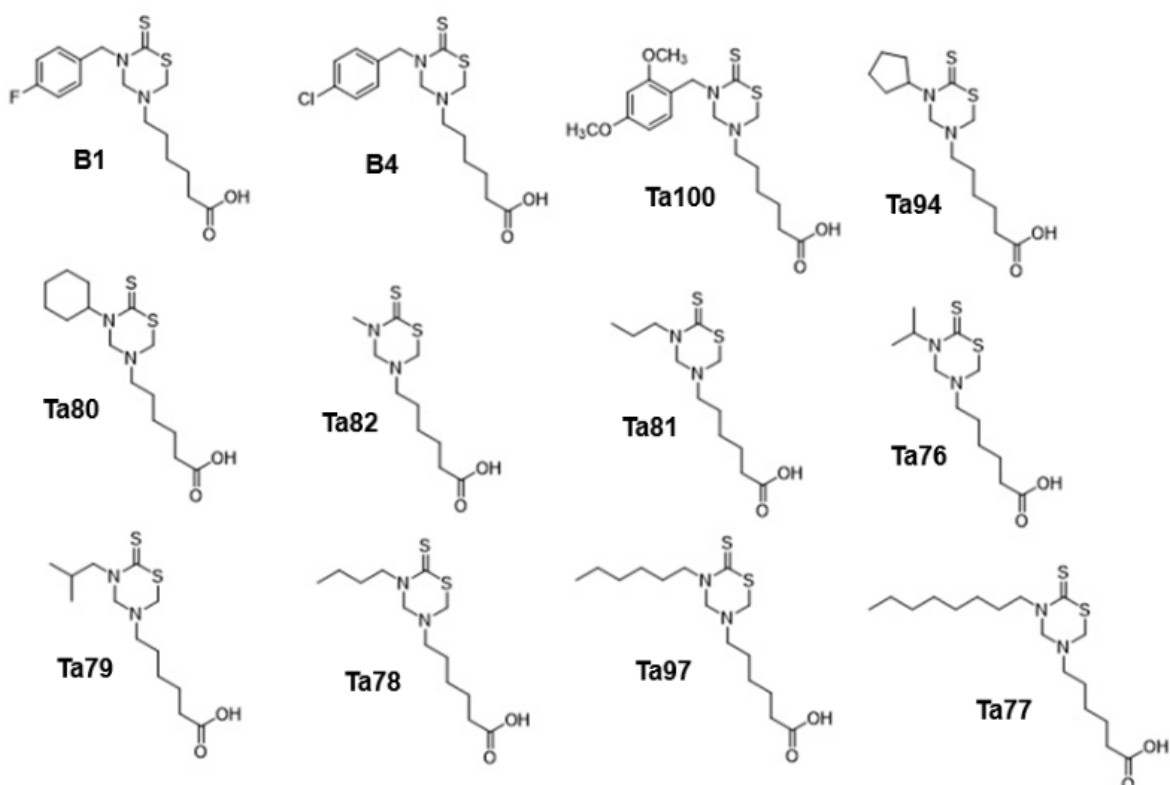
4. METODOLOGIA

Nesse estudo a metodologia utilizada foi a pesquisa experimental laboratorial *in vitro* quantitativa. Os derivados tiadiazínicos foram avaliados quanto à sua atividade antileishmania frente à cepa de *Leishmania amazonensis*, na qual é de maior disponibilidade no laboratório, na forma promastigota, visto que os ensaios com formas amastigotas são mais trabalhosos e demandam muito tempo.

Os compostos foram sintetizados, purificados, identificados e gentilmente cedidos pelo Instituto de Química da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (INQUI/UFMS) conforme trabalhos anteriores (Tamanna et al., 2024) e suas estruturas químicas estão ilustradas na Figura 3. Os compostos foram diluídos em

dimetilsulfóxido (DMSO, Sigma-Aldrich, EUA) estéril a 10 mM e armazenados a 4°C até o momento dos experimentos.

Figura 3: Estrutura química dos compostos tetrahydro-2H-1,3,5-tiadiazina-6-tiona 3,5-disubstituídos.



Fonte: autoria própria.

4.1. Cultura de parasitas

Formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* isoladas de camundongos (cepa IFLA/BR/1967/PH8), foram mantidas em repiques semanais a 26°C no meio de Schneider (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA), suplementado com 20% de soro fetal bovino inativado pelo calor (SFB, Sigma-Aldrich, EUA), 10.000 U/mL de penicilina e 10 mg/mL de estreptomicina (Sigma-Aldrich, EUA) por cerca de até 12 passagens seriadas, de forma a garantir o crescimento dos parasitas. Os parasitas em fase de crescimento exponencial (3 a 5 dias de cultura) foram utilizados para o ensaio antipromastigota *in vitro*. O presente procedimento experimental foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFMS (CEUA/UFMS) sob o protocolo nº 1.041/2019.

4.2. Ensaios anti-promastigotas

Os análogos tiadiazínicos foram testados e analisados em resposta à sua atividade antipromastigota frente à *Leishmania amazonensis*. Realizaram-se diluições seriadas de 50, 25, 12,5, 6,25, 3,125, 1,56, e 0,78 μM em meio Schneider (*Schneider's Insect Medium*, Sigma-Aldrich, EUA). As microplacas tiveram então os 96 poços semeados com formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* (2×10^5 parasitas/poço) e, em seguida, incubadas a 26 °C por 48 h. A viabilidade celular foi analisada pelo ensaio de resazurina, em que se preparou uma solução de resazurina (Sigma-Aldrich), reagente mais barato e mais fácil de se utilizar do que se comparado ao THTT, com concentração de 0,2 mg/mL e 5 μL foram adicionados em todos os poços. Em seguida, as placas de cultura foram incubadas em estufa a 37°C por um período de 4 h, e as absorbâncias foram determinadas a 570 nm e 600 nm em leitor de placa (SpectraMax, Molecular Devices, EUA). Para o cálculo da viabilidade, utilizaram-se as instruções dadas pelo site do fabricante do AlamarBlue® (Bio-Rad, Hercules, CA, EUA). A avaliação da viabilidade celular se deu pela densidade óptica de cada poço contendo os compostos e comparação com as células não tratadas, contendo apenas meio de cultura. O fármaco de atividade antileishmania de referência utilizado foi a anfotericina B em diferentes concentrações (0,078 a 5 μM). Outro controle utilizado foi o mesmo solvente dos compostos, dimetilsulfóxido (DMSO, Sigma-Aldrich, EUA) a 2% (v/v) em meio Schneider. Para a determinação dos valores da concentração inibitória semimáxima (CI_{50}) foi feita uma curva de regressão dose-resposta não linear desenvolvida pelo Prism 5 (GraphPad Software, EUA). ANOVA é a técnica estatística utilizada com pós-teste de Tukey para comparação das médias obtidas, com no mínimo um intervalo de confiança de 95%.

4.3. Ensaios de citotoxicidade *in vitro*

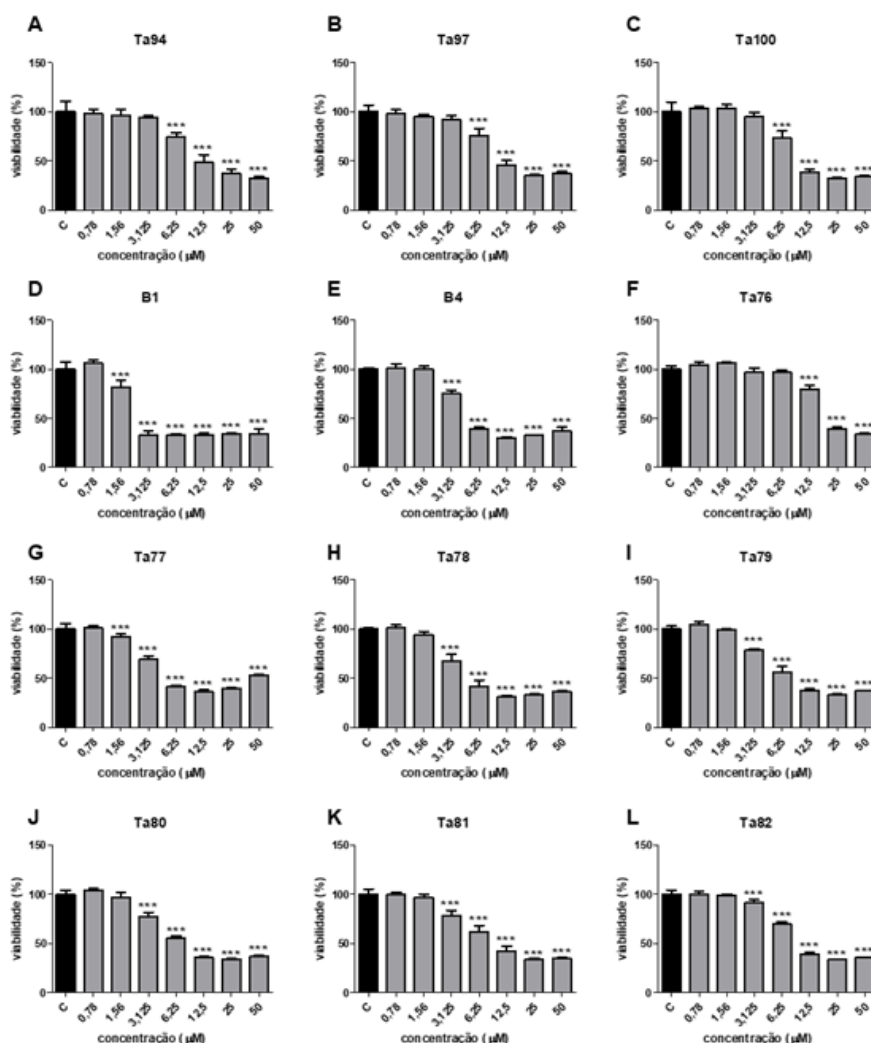
Para a realização dos ensaios de citotoxicidade utilizamos células J774A.1 (linhagem de macrófagos de camundongo) em placas de 96 poços (1×10^4 células/poço) contendo o meio RPMI 1640 (Sigma-Aldrich, EUA), suplementado com 10% de SFB (Cultilab, Campinas, Brasil), 10 UI.mL⁻¹ de penicilina e 100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ de estreptomicina (Sigma-Aldrich, EUA) em incubadora a 5% de CO₂ a 37 °C. Os compostos foram testados em concentrações de 3,125, 6,25, 12,5, 25, 50, 100 e 200 μM . Como fármaco de referência antileishmania se utilizaram poços com células

tratadas com anfotericina B (3,125 a 200 μM), e para o controle de viabilidade utilizou-se DMSO (Sigma-Aldrich, EUA) a 2% (v/v). A viabilidade celular foi analisada pelo método colorimétrico da resazurina, em que se adicionaram 5 μL de solução de resazurina 0,2 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ (Sigma-Aldrich, EUA) em cada poço e foram incubados novamente a 5% de CO_2 a 37 °C por 4 h. Em seguida, as absorbâncias foram quantificadas em 570 nm e 600 nm em leitor de placa. Para o cálculo de viabilidade, se utilizou a fórmula e instruções oferecidas pelo site do fabricante AlamarBlue® (Bio-Rad, Hercules, CA, EUA). A ferramenta de software GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Software, EUA) foi utilizada para calcular a concentração citotóxica semimáxima (CC50) através da geração de uma regressão não-linear da curva dose-resposta, e ANOVA com pós-teste de Tukey teve aplicação para analisar as variáveis obtidas, com um intervalo de confiança de 95%.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para avaliar a atividade antileishmania dos diferentes compostos tetrahydro-2H-1,3,5-tiadiazina-6-tiona 3,5-disubstituídos, as amostras foram diluídas em meio Schneider devidamente suplementado, com concentrações variando de 50 a 0,78 μM , e incubadas com formas promastigotas de *L. amazonensis* por 48 horas a 26°C. Após esse período, a viabilidade das células foi avaliada por espectrofotometria pelo método da resazurina, e os resultados estão na Figura 4.

Figura 4: Atividade antileishmaniana de compostos tetrahydro-2H-1,3,5-tiadiazina-6-tiona 3,5-disubstituídos.



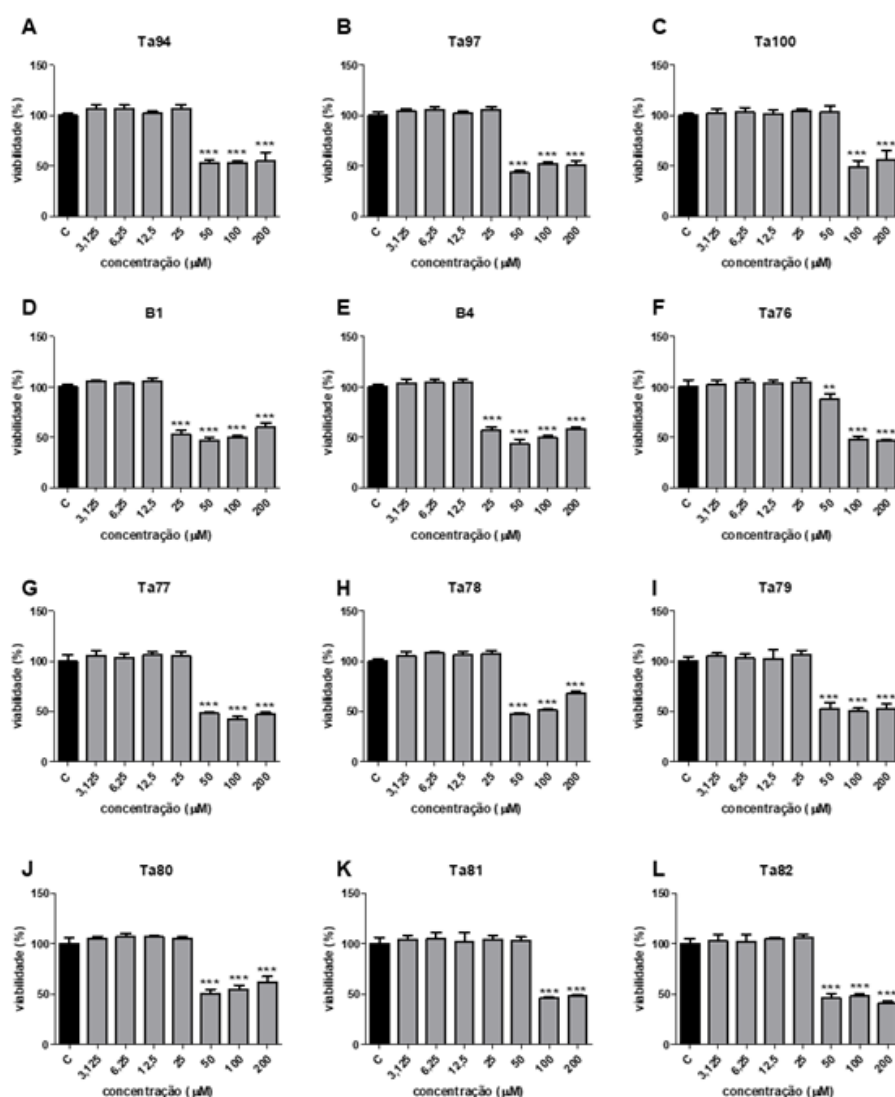
Diferentes concentrações das amostras foram incubadas com formas promastigotas de *L. amazonensis* por 48 horas, e a viabilidade foi avaliada por espectrofotometria. *** significa $p < 0,001$. (One-way ANOVA seguido de pós-teste de Tukey).

Podemos observar que todas as amostras reduziram a viabilidade das formas promastigotas nas maiores concentrações testadas em relação ao controle de viabilidade (CV, apenas parasitos com meio de cultura). No entanto, essa redução da viabilidade foi mais evidente para as amostras B1, B4, Ta77, Ta78 e Ta80 (Figura 4 gráficos D, E, G, H e J, respectivamente). Os demais compostos reduziram a viabilidade do parasito apenas em concentrações iguais ou maiores que 3,125 μM .

Os compostos tetrahydro-2H-1,3,5-tiadiazina-6-tiona 3,5-disubstituídos também foram avaliados quanto à citotoxicidade na linhagem celular J774A.1, linhagem celular derivada de macrófagos de camundongo. As células foram

incubadas com diferentes concentrações dos dos compostos (de 3,125 a 200 μ M) em meio RPMI devidamente suplementado por 48 horas a 37°C e 5% de CO₂. Após esse período, a viabilidade das células também foi avaliada pelo método da resazurina, e os resultados estão ilustrados na Figura 5. Podemos observar que as amostras foram citotóxicas para as células J774A.1 apenas nas concentrações maiores ou iguais a 25 μ M, nas condições testadas.

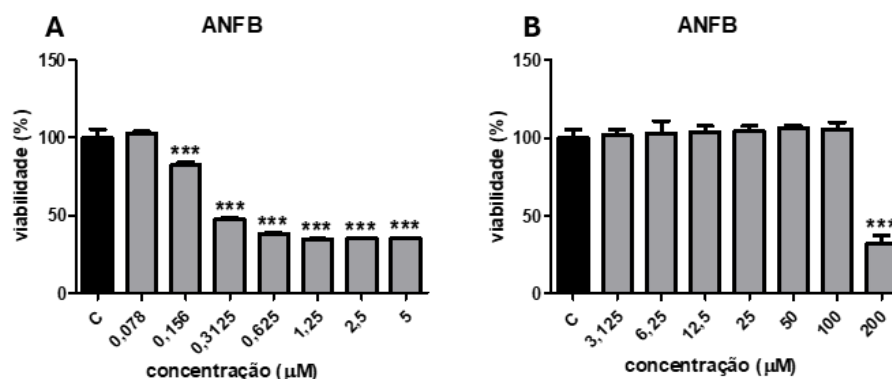
Figura 5: Avaliação da citotoxicidade de compostos tetrahydro-2H-1,3,5-tiadiazina-6-tiona 3,5-disubstituídos.



As amostras foram incubadas em diferentes concentrações com macrófagos da linhagem J774A.1 por 48 horas, e a viabilidade foi avaliada por espectrofotometria. ** e *** significam $p < 0,01$ e $p < 0,001$, respectivamente (One-way ANOVA seguido de pós-teste de Tukey).

Os resultados da avaliação antileishmania e citotoxicidade em células J774A.1 para o fármaco de referência anfotericina B encontram-se na Figura 6.

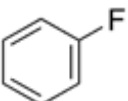
Figura 6: Atividade antileishmania e citotoxicidade de anfotericina B.

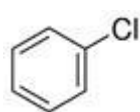


Anfotericina B foi incubada em diferentes concentrações com formas promastigotas de *L. amazonensis* (A) e macrófagos da linhagem J774A.1 (B) por 48 horas, e a viabilidade foi avaliada por espectrofotometria. *** significam $p < 0,001$ (One-way ANOVA seguido de pós-teste de Tukey).

Para uma melhor interpretação dos resultados obtidos de atividade antileishmania e citotoxicidade das tetrahydro-2H-1,3,5-tiadiazina-6-tiona 3,5-disubstituídas, foi feita uma regressão não linear dos resultados de viabilidade celular obtidos para o cálculo das concentrações inibitórias de 50% das células e concentrações citotóxicas de 50% das células (CI_{50} e CC_{50} , respectivamente). Além disso, o índice de seletividade de cada amostra foi calculado a partir dos resultados obtidos para CI_{50} e CC_{50} . Todos esses resultados estão expressos na Tabela 1.

Tabela 1: Resultados de CI_{50} , CC_{50} e índice de seletividade das amostras 1,3,5-tiadiazinas

N-3	CI_{50} promastigotas <i>L. amazonensis</i> (µM)	CC_{50} macrófagos J774A.1 (µM)	LogP	Índice de seletividade (IS)
	1,71	20,32	3,50	11,9

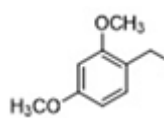


3,77

21,35

4,01

5,7



5,39

78,23

3,38

14,5

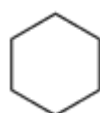


6,01

37,38

3,34

6,2

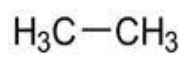


3,93

42,34

3,84

10,8



5,67

38,27

1,94

6,7

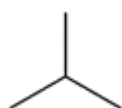


4,76

69,92

2,82

14,7

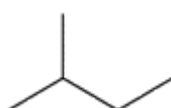


12,94

57,03

2,61

4,4



4,08

37,00

3,06

9,1

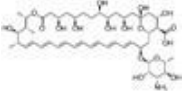


3,17

41,89

3,38

13,2

	6,22	37,94	4,38	6,1
	3,25	38,39	5,40	11,8
	0,16	190,60	-2,49	1191,3

Cl₅₀: concentração inibitória de 50% nas células promastigotas; CC₅₀: concentração citotóxica em 50% das células J774A.1; LogP: Logaritmo do coeficiente de partição; IS: índice de seletividade, obtido pela razão entre CC₅₀ e Cl₅₀; ANFB: anfotericina B (em µM).

Observando os resultados das Figuras 4 e 5 e da Tabela 1, podemos notar que as amostras de tetrahydro-2H-1,3,5-tiadiazina-6-tiona 3,5-disubstituídas reduziram de forma significativa e dose dependente a viabilidade de formas promastigotas de *L. amazonensis* nas condições testadas. Destacamos aqui os menores valores de Cl₅₀ obtidos para B1, Ta78, Ta77, B4 e Ta80, todos abaixo de 4 µM.

Considerando a citotoxicidade das amostras frente às células J774A.1, todas as amostras apresentaram citotoxicidade nas maiores concentrações testadas, com valores de CC₅₀ maiores que 20 µM. Já o índice de seletividade (IS) de cada amostra foi obtido pela razão da CC₅₀ pela Cl₅₀ de cada amostra, e encontra-se na Tabela 1. Quanto maior o IS, maior a seletividade de uma amostra em reduzir a viabilidade da célula dos parasitos do que das células de mamíferos testadas. Dessa forma, a amostra de 1,3,5-tiadiazinas que apresentou maior seletividade foi Ta81, seguida de Ta100, Ta78, B1 e Ta77 (IS 14,7, 14,5, 13,2, 11,9 e 11,8, respectivamente).

A molécula Ta81 foi a que demonstrou maior Índice de Seletividade (IS), isso pode se dar ao fato de ela ter uma relação ideal entre hidrofiliicidade e lipofiliicidade, onde na posição N-5 tem um ácido carboxílico ao final da cadeia com 6 carbonos (ácido hexanóico), presente em todas as estruturas testadas, que confere

hidrofilicidade a molécula, além da porção ácida conseguir interagir com alvos moleculares de forma a potencializar a ação antiparasitária através dos aminoácidos e dipeptídeos liberados (BERMELLO et al., 2011). E na posição N-3 tem um grupo alifático de 3 carbonos que proporciona lipofilicidade à molécula. Variações nessa relação de hidrofilicidade e lipofilicidade alteram drasticamente a atividade da molécula, e o que varia essa relação são substituintes na posição N-3 com número de carbonos diferentes de 3, como nas moléculas Ta78, Ta77, Ta82 e Ta97. É interessante salientar também que o composto Ta78 tem a mesma estrutura do composto 6 testado por Tamanna e colaboradores (2024), cuja CI50 contra formas promastigotas de *L. major* foi de 2 μ M

Já a molécula Ta100 apresentou o segundo maior IS, onde na posição N-3 tem dois metóxi (-OCH₃) para e meta substituídos, e esse grupo funcional tem natureza anfifílica, ajudando a manter um equilíbrio entre lipofilicidade e hidrofilicidade na molécula. O grupo -OCH₃ também tem dois receptores de centros doadores de ligação de hidrogênios na molécula, o que pode gerar uma maior interação entre os resíduos de lisina, tirosina e aspartato (MA; ZHANG; TANG; LIU, 2018), aminoácidos fundamentais para o metabolismo da *Leishmania*, e dessa forma, potencializar o efeito antileishmania.

A molécula B1 apresentou o terceiro maior valor de IS, devido em parte a substituição por um fluorobenzeno no N-3, que confere caráter levemente anfifílico à molécula. Apesar disso, a B1 é mais lipofílica que a Ta100, pois há apenas um grupo capaz de realizar ligações de hidrogênio, enquanto no Ta100 há dois grupos capazes de realizar LDH. Enquanto na molécula B4, que apresentou um dos menores IS, temos um clorobenzeno em N-3 que não realiza ligação com hidrogênio, tornando a molécula altamente lipofílica, quebrando o balanço entre lipofilicidade e hidrofilicidade na estrutura.

As amostras Ta76, B4, Ta97, Ta94, Ta82 revelaram menores valores de IS (IS 4,4; 5,7; 6,1; 6,2 e 6,7, respectivamente), o que significa que tais compostos não apresentaram resultados satisfatórios quanto a seletividade em diminuir a disponibilidade da célula dos parasitos em relação às células de teste.

A molécula Ta76 possui um isopropil em sua estrutura química, na qual se trata de grupo volumoso e altamente lipofílico. A ligação desse grupamento com o farmacóforo central aumenta a lipofilicidade e a citotoxicidade, o que impacta no valor do IS, sendo a substância com menor valor da tabela. É possível que o

impedimento estérico da ramificação dificulta a ação do anel tiadiazínico, reduzindo significativamente a ação desta molécula.

Enquanto isso, a molécula Ta94 contém um ciclopentano, um grupo hidrofóbico volumoso, na qual pode aumentar sua lipofilicidade, o que aumenta a potência da atividade-antileishmania mas pode ser maléfica às células teste. Já a molécula Ta80 possui uma estrutura semelhante à molécula citada anteriormente, porém com um ciclohexano, tal fator pode ter relevância de um grupo hidrofílico em N3, o que pode contribuir positivamente para a relação de hidrofília e lipofília. Apesar da remoção de apenas um carbono do anel, é curioso observar que o ciclopentano em Ta94 apresenta atividade menor que Ta80, talvez devido a redução no tamanho do substituinte.

A molécula Ta79 apresenta um grupo butano em N3, o que pode aumentar a lipofilicidade do composto e promover uma possível resposta tóxica, a quebra da relação entre hidrofilicidade e lipofilicidade indica um ponto causador da redução do valor de IS.

É interessante observar também os resultados obtidos para a anfotericina B, fármaco de segunda escolha para o tratamento de leishmanioses: demonstrou baixa citotoxicidade para células J774A.1 (CC_{50} de 190,60 μ M), e é bastante ativa contra o parasito (CI_{50} de 0,16 μ M), o que se reflete num IS de 1191,3. Esse resultado pode variar bastante de acordo com as cepas de *Leishmania*, as linhagens celulares e as condições usadas em cada experimento. Apesar de se tratar de um experimento *in vitro*, os efeitos tóxicos da anfotericina B para os pacientes são bem conhecidos (BRASIL, 2017).

6. CONCLUSÃO

O estudo de compostos tetrahydro-2H-1,3,5-tiadiazina-6-tiona 3,5-disubstituídos evidencia a necessidade e a importância de analisar novas moléculas com potencial atividade antileishmania, como forma de descobrir suas ações terapêuticas, a fim de alcançar medicamentos tão eficazes, como a anfotericina B, mas com uma menor toxicidade e efeitos colaterais severos no tratamento da Leishmaniose Cutânea.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALTAMURA, Fernando; RAJESH, Rishi; CATTAPRETA, Carolina M. C.; MORETTI, Nilmar S.; CESTARI, Igor. The current drug discovery landscape for trypanosomiasis and leishmaniasis: challenges and strategies to identify drug targets. **Drug Development Research**, v. 83, n. 2, p. 225-252, 2020. DOI: 10.1002/ddr.21664.

ARSHAD, Nuzhat; HASHIM, Jamshed; IRFANULLAH; MINHAS, Muhammad Ali; ASLAM, Javeria; ASHRAF, Tahira; HAMID, Syeda Zehra; IQBAL, Tahseen; JAVED, Shumaila. New series of 3,5-disubstituted tetrahydro-2H-1,3,5-thiadiazine thione (THTT) derivatives: synthesis and potent antileishmanial activity. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 28, n. 19, p. 3251-3254. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2018.07.045>

BERMELLO, Julieta Coro; PIÑEIRO, Rolando Pérez; FIDALGO, Lianet Monzote; CABRERA, Hortensia Rodríguez; NAVARRO, Margarita Suárez. Thiadiazine Derivatives as Antiprotozoal New Drugs. **The Open Medicinal Chemistry Journal**, v. 51, n. 60, p. 51-60, 2011. DOI: 10.2174/1874104501105010051.

BRASIL. Ministério da Saúde. Normas técnicas para diagnóstico, tratamento e controle da leishmaniose tegumentar americana. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2017. Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2017/MatrizesConsolidacao/comum/37559.html>. Acesso em: 4 jun. 2025.

Center for Disease Control and Prevention. CDC, 2024. Leishmaniasis. Disponível em: <https://www.cdc.gov/dpdx/leishmaniasis/index.html>. Acesso em: 10 abr. 2025.

CHAKRAVARTY, Jaya; SUNDAR, Shyam. Drug resistance in leishmaniasis. **Journal Of Global Infectious Diseases**, v. 2, n. 2, p. 167-176, 2010. DOI: 10.4103/0974-777X.62887.

CORMAN, Hannah N.; MCNAMARA, Case W.; BAKOWSKI, Malina A.. Drug Discovery for Cutaneous Leishmaniasis: a review of developments in the past 15

years. **Microorganisms**, v. 11, n. 12, p. 2845, 2023. DOI: 10.3390/microorganisms11122845.

CORO, Julieta; PÉREZ, Rolando; RODRÍGUEZ, Hortensia; SUÁREZ, Margarita; VEGA, Celeste; ROLÓN, Miriam; MONTERO, David; NOGAL, Juan José; GÓMEZ-BARRIO, Alicia. Synthesis and antiprotozoan evaluation of new alkyl-linked bis(2-thioxo-[1,3,5]thiadiazinan-3-yl) carboxylic acids. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 13, n. 10, p. 3413-3421, 2005. DOI: 10.1016/j.bmc.2005.03.009.

DA CRUZ, Beatriz Rebouças; LIMA, Ana Dar'c Alecrim de; BARRETO, Fernanda Batista; CARVALHO, Eduardo Robertson de. Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA): formas de contaminação e coinfecção. **Brazilian Journal Of Development**, v. 9, n. 7, p. 21718-21736, 11 jul. 2023. South Florida Publishing LLC. DOI: <http://dx.doi.org/10.34117/bjdv9n7-038>.

DE SOUZA, Raphaella Morais Pessoa; NOGUEIRA, Laura Carolina Daroszenwski; BERNARDINO, Julia de Oliveira; CATHARINO, Letícia Christiany Rodrigues; OLIVEIRA, Arthur Carvalho de. LEISHMANIOSE CUTÂNEA: diagnósticos diferenciais e manejo clínico. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, v. 10, n. 8, p. 2905-2912, 2024. DOI: <https://doi.org/10.51891/rease.v10i8.15178>.

FERMIANO, Maria Helena; DAS NEVES, Amarith Rodrigues; DA SILVA, Fernanda; BARROS, Manuella Salustiano Andrade; VIEIRA, Camila Barbosa; STEIN, André L.; FRIZON, Tiago Elias Allievi; BRAGA, Antonio Luiz; DE ARRUDA, Carla Cardozo Pinto; PARISOTTO, Eduardo Benedetti; SABA, Sumbal; RAFIQUE, Jamal; RIUL, Thalita Bachelli. Selenium-Containing (Hetero)Aryl Hybrids as Potential Antileishmanial Drug Candidates: *in vitro* screening against *L. amazonensis*. **Biomedicines**, v. 12, n. 1, p. 213, 2024. DOI: 10.3390/biomedicines12010213.

FRÉZARD, Frédéric; DEMICHELI, Cynthia; RIBEIRO, Raul R.. Pentavalent Antimonials: new perspectives for old drugs. **Molecules**, v. 14, n. 7, p. 2317-2336, 2009. DOI: 10.3390/molecules14072317.

GONTIJO, Bernardo; DE CARVALHO, Maria de Lourdes Ribeiro. Leishmaniose tegumentar americana. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, p. 71-80, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0037-86822003000100011>.

GRAY, Kaitlyn C.; PALACIOS, Daniel S.; DAILEY, Ian; ENDO, Matthew M.; UNO, Brice E.; WILCOCK, Brandon C.; BURKE, Martin D.. Amphotericin primarily kills yeast by simply binding ergosterol. **Proceedings Of The National Academy Of Sciences**, v. 109, n. 7, p. 2234-2239, 2012. DOI: 10.1073/pnas.1117280109.

MA, Chen-Chen; ZHANG, Cheng-Mei; TANG, Long-Qian; LIU, Zhao-Peng. Discovery of novel quinazolinone derivatives as high potent and selective PI3K δ and PI3K δ/γ inhibitors. **European Journal Of Medicinal Chemistry**, v. 151, p. 9-17. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.03.068>.

MANN, Sarah; FRASCA, Katherine; SCHERRER, Sara; HENAO-MARTÍNEZ, Andrés F.; NEWMAN, Sabrina; RAMANAN, Poornima; A SUAREZ, José. A Review of Leishmaniasis: current knowledge and future directions. **Current Tropical Medicine Reports**, v. 8, n. 2, p. 121-132, 2021. DOI: 10.1007/s40475-021-00232-7.

NEVES, David Pereira. **Parasitologia Humana**, 13^a ed., editora Atheneu, Rio de Janeiro, RJ, 588 p., 2016.

Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS). Leishmanioses: informe epidemiológico da Região das Américas. Nº 13, dezembro de 2024. Washington, D.C.: OPAS; 2024. Disponível em: [hps://iris.paho.org/handle/10665.2/51742](https://iris.paho.org/handle/10665.2/51742). Acesso em: 19 jun. 2025.

Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS). Leishmaniose. Washington, D.C.: OPAS; 2025. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/topicos/leishmaniose#destaques>. Acesso em: 12 de setembro de 2025.

RATH, Susanne; TRIVELIN, Luciano Augusto; IMBRUNITO, Talitha Rebecca; TOMAZELA, Daniela Maria; JESÔS, Marcelo Nunes de; MARZAL, Percy Calvo;

ANDRADE JUNIOR, Heitor Franco de; TEMPONE, André Gustavo. Antimoniais empregados no tratamento da leishmaniose: estado da arte. **Química Nova**, v. 26, n. 4, p. 550-555, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422003000400018>.

ROATT, Bruno Mendes; CARDOSO, Jamille Mirelle de Oliveira; BRITO, Rory Cristiane Fortes de; COURA-VITAL, Wendel; AGUIAR-SOARES, Rodrigo Dian de Oliveira; REIS, Alexandre Barbosa. Recent advances and new strategies on leishmaniasis treatment. **Applied Microbiology And Biotechnology**, v. 104, n. 21, p. 8965-8977, 2020. DOI: [10.1007/s00253-020-10856-w](https://doi.org/10.1007/s00253-020-10856-w).

RODRÍGUEZ, Hortensia; SUÁREZ, Margarita; ALBERICIO, Fernando. Thiadiazines, N,N-Heterocycles of Biological Relevance. **Molecules**, v. 17, n. 7, p. 7612-7628, 2012. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules17077612>.

SARWAR, Sarah; SARWAR, Nadia; ALI, Haleema; RAFIULLAH; KHAN, Rasool; AHMAD, Ajaz; ULLAH, Amin; SOONMIN, Ho; ULLAH, Nazif. Targeting Cutaneous Leishmaniasis with Thiadiazine Thione Derivatives: an in vivo study of its anti-inflammatory, anti-pyretic, anti-nociceptive, and anti-sedative properties. **Biomedicines**, v. 13, n. 1, p. 93, 2025. DOI: <https://doi.org/10.3390/biomedicines13010093>.

SILVEIRA, Aline Valério Barbosa; CANDIDO, Rafaela; FRANCISCATO, Caroline. Antimoniato intralesional para tratamento de leishmaniose tegumentar: uma revisão de literatura. **Research, Society And Development**, v. 13, n. 9, p. 1-6, 23 set. 2024. Research, Society and Development. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v13i9.46905>.

SUNDAR, Shyam; CHAKRAVARTY, Jaya. Liposomal amphotericin B and leishmaniasis: dose and response. **Journal Of Global Infectious Diseases**, v. 2, n. 2, p. 159, 2010. DOI: [10.4103/0974-777X.62886](https://doi.org/10.4103/0974-777X.62886)

TAMANNA; FU, Chaoping; QADIR, Meshil; SHAH, Muhammad Ishaq Ali; SHTAIWI, Amneh; KHAN, Rasool; KHAN, Shafi Ullah; HTAR, Thet Thet; ZADA, Amir; LODHI, Muhammad Arif. Thiadiazine thione derivatives as antileishmanial agents: synthesis,

biological evaluation, structure activity relationship, admet, molecular docking and molecular dynamics simulation studies. **Journal Of Biomolecular Structure And Dynamics**, v. 42, n. 15, p. 7758-7772, 7 ago. 2023. DOI: 10.1080/07391102.2023.2245480.

TEIXEIRA, Vanessa Cristina; AMORIM, Ana Cláudia Oliveira; RODRIGUES, Camila Ribeiro; SAMPAIO FILHO, Hernan Carlos; CAMBUY, Marina Rafaela Teixeira; MACHADO, Renê Dantas; DE CAYRES, Thainan Barbosa; DOS SANTOS, Yalle Rayanne Alves. Miltefosina no tratamento da Leishmaniose Tegumentar: eficácia e limitações da primeira terapia oral autorizada no Brasil. **Brazilian Journal Of Health Review**, v. 6, n. 4, p. 17261-17272, 2023. DOI: <https://doi.org/10.34119/bjhrv6n4-251>.

WIWANITKIT, Viroj. Interest in paromomycin for the treatment of visceral leishmaniasis (kala-azar). **Therapeutics And Clinical Risk Management**, v. 8, n. 22, p. 323-328, 2012. DOI: 10.2147/TCRM.S30139

WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO, 2023. Leishmaniasis. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>. Acesso em: 08 abr. 2025.