

## RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo deste trabalho será disponibilizado somente a partir de 10/03/2019.

**Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”**

**ANGELA MARIA ARENAS VELÁSQUEZ**

**Do *screening* ao mecanismo de ação, uma contribuição para a descoberta de ciclopaladados bioativos: a atividade leishmanicida de CP2 e seu efeito inibitório frente à DNA topoisomerase 1B de *Leishmania***

**ANGELA MARIA ARENAS VELÁSQUEZ**

**Do *screening* ao mecanismo de ação, uma contribuição para a descoberta de ciclopaladados bioativos: a atividade leishmanicida de CP2 e seu efeito inibitório frente à DNA topoisomerase 1B de *Leishmania***

Tese apresentada ao Instituto de Química de Araraquara, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Araraquara, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Biotecnologia.

Orientadora: **Profa. Dra. Marcia A. S. Graminha**

FICHA CATALOGRÁFICA

V434d Velásquez, Angela Maria Arenas  
 Do *screening* ao mecanismo de ação, uma contribuição para a descoberta de ciclopaldados bioativos: a atividade leishmanicida de CP2 e seu efeito inibitório frente à DNA topoisomerase 1B de *Leishmania* / Angela Maria Arenas Velásquez. – Araraquara : [s.n.], 2017  
 131 f. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química  
 Orientador: Marcia Aparecida Silva Graminha

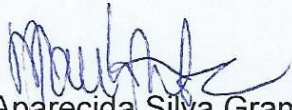
1. Leishmaniose. 2. Doença de Chagas. 3. *Leishmania*.  
 4. Tripanosomatídeos. 5. Paládio. I. Título.

ANGELA MARIA ARENAS VELASQUEZ

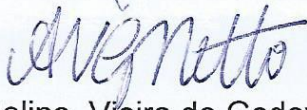
Tese apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Biotecnologia.

Araraquara, 10 de março de 2017.

BANCA EXAMINADORA



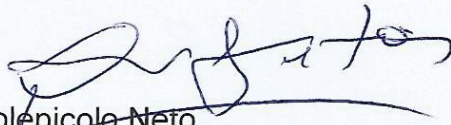
Profª Drª Marcia Aparecida Silva Graminha (Orientadora)  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas / UNESP / Araraquara - SP



Prof. Dr. Adelino Vieira de Godoy Netto  
Instituto de Química / UNESP / Araraquara - SP



Prof. Dr. Luiz Ricardo Orsini Tosi  
Faculdade de Medicina / USP / Ribeirão Preto - SP



Prof. Dr. Pio Colepicolo Neto  
Instituto de Química / USP / São Paulo - SP



Profª Drª Silvia Reni Bortolin Uliana  
Instituto de Ciências Biomédicas / USP / São Paulo - SP

## Dados curriculares

**ANGELA MARIA ARENAS VELÁSQUEZ**

<http://lattes.cnpq.br/6388632764860377>

## Formação acadêmica/titulação

### **2013 a atualidade**

Doutorado em Biotecnologia (Conceito CAPES 5).  
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Brasil.  
Bolsista: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES, Brasil.  
Orientadora: Marcia A. S. Graminha.

### **2011 - 2013**

Mestrado em Biotecnologia.  
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Brasil.  
Título: Avaliação do potencial tripanocida de benzil diaminas, diaminas de ferroceno e derivados de 1,4-naftoquinonas em cepas de *Trypanosoma brucei brucei*.  
Ano de Obtenção: 2013.  
Orientadora: Regina Maria Barretto Cicarelli.  
Bolsista: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES, Brasil.

### **2000 - 2005**

Graduação em Química.  
Universidad del Valle, UNIVALLE, Cali, Colômbia.  
Título: Clonación y Localización de una Beta Anhidrasa Carbónica a Partir del Vector Africano de Malaria (*Anophles gambiae*) y del Vector Suramericano de Fiebre Amarilla (*Stegomyia aegypti*).  
Orientador: Maria del Pilar Corena; Co-orientador: Adalberto Sanchez.

## Formação Complementar

### **2014 - 2014**

IX Curso de Inverno: Temas avançados de Bioquímica. (Carga horária: 80h). Universidade de São Paulo, USP, Brasil.

Search for targets and drug discovery in trypanoso. (Carga horária: 40h). Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Brasil.

Pré-Módulo 2: A importância de primers bem desenha. (Carga horária: 8h). Life Technologies, LIFE TEC, Brasil.

### **2013 - 2013**

Medicinal Inorganic Chemistry with Emphasis on Zin. (Carga horária: 4h). 5th Symposium on Biological Chemistry, Health and Medicine, SBC, Brasil.

Search for new drug targets in Trypanosomatides.... (Carga horária: 4h). Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Brasil.

Fundamentos da PCR Quantitativa em Tempo Real. (Carga horária: 20h). Life Technologies, LIFE TEC, Brasil.

### **2012 - 2012**

Citometria de Fluxo. (Carga horária: 8h). Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Brasil.

Assistência Farmacêutica. (Carga horária: 2h). Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Brasil.

Treinamento da Linha Health Care. (Carga horária: 1h). Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Brasil.

Atuação do Farmacêutico na Indústria de Bens de Co. (Carga horária: 2h). Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Brasil.

Tópicos Avançados em Biofarmacia e Farmacocinética. (Carga horária: 40h). Red biofarma, REDBIOFARMA, Espanha.

### **2011 - 2011**

AVANCES EN GENÉTICA FORENSE. (Carga horária: 16h). Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Brasil.

ANÁLISE FORENSE. (Carga horária: 12h). Universidade de São Paulo, USP, Brasil.

### **Atuação Profissional**

**2015 – 2015 Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Brasil.**

Vínculo: Bolsista, Enquadramento Funcional: Assistente de Docencia: Parasitologia Clínica aplicada a farmácia, Carga horária: 4

Vínculo: Bolsista, Enquadramento Funcional: Assistente de Docencia: Parasitologia Clínica, Carga horária: 4

Vínculo: Bolsista, Enquadramento Funcional: Assistência de Docência: Parasitologia, Carga horária: 4

**2014 – 2014 Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Brasil.**



Vínculo: Bolsista, Enquadramento Funcional: Assistência de Docência: Biotecnologia Farmacêutica, Carga horária: 4

Vínculo: pesquisadora invitada, Enquadramento Funcional: Aula de PCR em tempo real para alunos do programa de pós-graduação em Biotecnologia, Carga horária: 4

**2008 – 2011 PLASTIC FILMS INTERNACIONAL, PLAFILM, Colômbia.**

Vínculo: Chefe de Produção e Qualidade, Carga horária: 50, Regime: Dedicção exclusiva.

**2005 – 2006 LICEO JUAN PABLO II, JUAN PABLO II, Colômbia.**

Vínculo: PROFESSOR, Enquadramento Funcional: PROFESSOR AREAS QUIMICA E BIOLOGIA, Carga horária: 48, Regime: Dedicção exclusiva.

**2004 – 2004 Universidad Del Valle, UNIVALLE, Colômbia.**

Vínculo: Bolsista, Enquadramento Funcional: Assistência de Docência: Laboratório de Bioquímica, Carga horária: 4

**Revisor de periódico**

**2014 - Atual**

Periódico: Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada

**2015 - Atual**

Periódico: ACS Medicinal Chemistry Letters

**Idiomas**

**Espanhol:** Compreende Bem, Fala Bem, Lê Bem, Escreve Bem.

**Inglês:** Compreende Razoavelmente, Fala Razoavelmente, Lê Razoavelmente, Escreve Razoavelmente.

**Português:** Compreende Bem, Fala Bem, Lê Bem, Escreve Bem.

**Italiano:** Compreende Pouco, Fala Pouco, Lê Pouco, Escreve Pouco.

**Produções**

**1. VELÁSQUEZ, ANGELA M. A.; SOUZA, RODRIGO A. DE; PASSALACQUA, THAÍS G.; RIBEIRO, ALINE R.; SCONTRI, MATEUS; CHIN, CHUNG M.; ALMEIDA, LETICIA DE; CISTIA, MAYARA L. DEL; ROSA, JOÃO A. DA; MAURO, ANTONIO E.; GRAMINHA, MARCIA A. S..** Antiprotozoal Activity of the Cyclopalladated Complexes Against *Leishmania amazonensis* and *Trypanosoma cruzi*. Journal of the Brazilian Chemical Society, v. 27, n. 6, p. 1032-1038, 2016.

**2. PASSALACQUA, THAIS GABAN; DUTRA, LUIZ ANTONIO; DE ALMEIDA, LETÍCIA; VELÁSQUEZ, ANGELA MARIA ARENAS; TORRES, FABIO AURELIO**



ESTEVEES; YAMASAKI, PAULO RENATO; DOS SANTOS, MARIANA BASTOS; REGASINI, LUIS OCTAVIO; MICHELS, PAUL A.M.; BOLZANI, VANDERLAN DA SILVA; GRAMINHA, MARCIA A. S. Synthesis and evaluation of novel prenylated chalcone derivatives as anti-leishmanial and anti-trypanosomal compounds. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, v. 25, p. 3342-3345, 2015.

**3. VELÁSQUEZ, ANGELA MARIA ARENAS;** FRANCISCO, ACÁCIO IVO; KOHATSU, ANDRÉA AKIKO NAKAIMA; SILVA, FLAVIA ALVES DE JESUS; RODRIGUES, DANILO FERNANDO; TEIXEIRA, RAFAELA GOMES DA SILVA; CHIARI, BRUNA GALDORFINI ; ALMEIDA, MARIA GABRIELA JOSÉ DE; ISAAC, VERA LUCIA BORGES; VARGAS, MARIA D.; CICARELLI, REGINA MARIA BARRETTO. Synthesis and tripanocidal activity of ferrocenyl and benzyl diamines against *Trypanosoma brucei* and *Trypanosoma cruzi*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, v. 24, p. 1707-1710, 2014.

**4. TORRES, FÁBIO A.E.;** PASSALACQUA, THAIS G.; **VELÁSQUEZ, ANGELA M.A.;** DE SOUZA, RODRIGO A.; COLEPICOLO, PIO; GRAMINHA, MÁRCIA A.S.. New drugs with antiprotozoal activity from marine algae: a review. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 24, p. 265-276, 2014.

**5. RODRIGUES, DANILO FERNANDO;** **ARENAS VELÁSQUEZ, ANGELA MARÍA;** CAVALEIRO, CARLOS; SALGUEIRO, LÍGIA; MARTINS, GILMÁRCIO ZIMMERMANN; MAGALHÃES, NATHÁLIA OLIVEIRA; MARTINS, MARIA BERNADETE GONÇALVES; CICARELLI, REGINA MARIA BARRETTO; MOREIRA, RAQUEL REGINA DUARTE. Chemical Composition and Trypanocidal Activity of the Essential Oils from *Hedychium coronarium J. Koenig (Zingiberaceae)*. *ISRN Infectious Diseases*, v. 2013, p. 1-6, 2013.

### Apresentações de Trabalho

**1. VELÁSQUEZ, A. M. A.;** SOUZA, R. A.; RIMOLDI, A. R.; Da ROSA, J. A.; MAURO, A. E.; COLEPICOLO, P.; GRAMINHA, MÁRCIA A.S.. Antiprotozoal activity *in vitro* of cyclopalladated complex against *Leishmania amazonensis* and *Trypanosoma cruzi*. 2015. (Apresentação de Trabalho/Simpósio).

**2. VELÁSQUEZ, A. M. A.;** DE SOUZA, RODRIGO A.; RIMOLDI, A. R.; Da ROSA, J. A.; MAURO, A. E.; GRAMINHA, MÁRCIA A. S. *In vitro* and *in vivo* leishmanicidal activity of a cyclopalladated compound against *Leishmania amazonensis*. 2015. (Apresentação de Trabalho/Outra).

**3. ARENAS VELÁSQUEZ, A. M.;** RIBEIRO, W. C.; SANTORO, M.; PASSALACQUA, T. G. ; RIMOLDI, A. R.; DEL CISTIA, M. L.; MAURO, A. E. ; DESIDERI, A.; GRAMINHA, M. A. S.. Leishmanicidal activity of a binuclear cyclopalladated complex against *Leishmania amazonensis*: *In vitro* and *In vivo* analyses and potential Topoisomerase IB Inhibitor. 2015. (Apresentação de Trabalho/Outra).

4. **VELÁSQUEZ, ANGELA MARIA ARENAS; SOUZA, R. A.; RIMOLDI, A. R.; TORRES, F. A. E.; Da ROSA, J. A.; MAURO, A. E.; COLEPICOLO, P.; GRAMINHA, MÁRCIA A.S.**. Evaluation of Leishmanicidal and Trypanocidal activity of cyclopalladated complex. 2014. (Apresentação de Trabalho/Congresso).
5. **PASSALACQUA, T. G.; ALMEIDA, L.; ARENAS VELÁSQUEZ, ANGELA MARÍA; DE SOUZA, RODRIGO A.; TORRES, F. A. E.; GRAMINHA, M.** Evaluation antileishmanial activity and inhibitory effect of palladium compounds on DNA topoisomerase (*LiTOP1B*) of *Leishmania infantum*. 2014. (Apresentação de Trabalho/Outra).
6. **VELÁSQUEZ, ANGELA MARIA ARENAS; DE SOUZA, RODRIGO A.; MARTINEZ, I.; CICARELLI, R. M. B.; MAURO, A. E.; GRAMINHA, MÁRCIA A. S.** Evaluation of Trypanocidal activity of Binuclear Cyclopalladated Based on N,N-dimethylbenzylamine. 2013. (Apresentação de Trabalho/Simpósio).
7. **DE SOUZA, RODRIGO A.; VELÁSQUEZ, ANGELA MARIA ARENAS; MARTINEZ, I.; MAURO, A. E.; GRAMINHA, MÁRCIA A. S.** Cyclopalladated Compounds Based on N,N-dimethylbenzylamine and isonicotinamide as Promising Leishmanicidal Drugs. 2013. (Apresentação de Trabalho/Simpósio).
8. **SILVA, F.J.A.; RODRIGUES, D. F.; VELÁSQUEZ, A. M. A.; KOHATSU, A. A. N.; REGASINI, L. O.; SILVA, D. H. S.; CICARELLI, R. M. B.** Evaluation of Trypanocidal activity of *Distictella mansoana*, *Jacaranda puberula* and *Stizophyllum perforatum* extracts on *Trypanosoma cruzi* Y strain. 2012. (Apresentação de Trabalho/Congresso).
9. **ARENAS VELÁSQUEZ, A. M.; RODRIGUES, D. F.; SILVA, F. A. J.; CHIARI, B.; ALMEIDA, G.; ISSAC, V. L.; FRANCISCO, A. I.; VARGAS, M. D.; CICARELLI, R. M. B.**. Evaluation of the Trypanocidal activity of diamines and ferrocenyl diamines against *Trypanosoma brucei* strains. 2012. (Apresentação de Trabalho/Congresso).
10. **ARENAS VELÁSQUEZ, A. M.; SILVA, F. A. J.; RODRIGUES, D. F.; KOHATSU, A. A. N.; CHIARI, B.; ALMEIDA, G.; ISSAC, V. L.; FRANCISCO, A. I.; VARGAS, M. D.; CICARELLI, R. M. B.** Evaluation of the trypanocidal activity of 1,4-naphthoquinones against *Trypanosoma brucei* strains. 2012. (Apresentação de Trabalho/Congresso).
11. **KOHATSU, A. A. N.; SILVA, F. A. J.; ARENAS VELÁSQUEZ, A. M.; RODRIGUES, D. F.; CHIARI, B.; ALMEIDA, G.; FRANCISCO, A. I.; ANDREA, S.; ROSA, J.; VARGAS, M. D.; ISSAC, V. L.; CICARELLI, R. M. B.** Evaluation of the susceptibility of epimastigote strains from *T. cruzi* to ferrocenyl diamines. 2012. (Apresentação de Trabalho/Congresso).
12. **MARTINS, G.; MAGALHAES, N.; SILVA, F. A. J.; VELÁSQUEZ, A. M. A.; RODRIGUES, D. F.; KOHATSU, A. A. N.; PLANETA, C.; CICARELLI, R. M. B.; MOREIRA, R.** Trypanocidal activity of fruits extracts of *Solanum lycocarpum* St. Hill. on *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma brucei* strains. 2012. (Apresentação de Trabalho/Congresso).

**13. RODRIGUES, D. F.; ARENAS VELÁSQUEZ, A. M.; SALGUEIRO, L.; CAVALEIRO, C.; MARTINS, G.; MAGALHAES, N.; SANTOS, L.; MARTINS, M.; CICARELLI, R.M.B.; MOREIRA, R.** Chemical composition and trypanocidal activity evaluation of essential oils from *Hedychium coronarium* against *Trypanosoma brucei* strains. 2012. (Apresentação de Trabalho/Simpósio).

**14. MARTINS, G.; GUIMARAES, F.; SILVA, F. A. J.; VELÁSQUEZ, A. M. A.; RODRIGUES, D. F.; KOHATSU, A. A. N.; ALMEIDA, A. E.; PLANETA, C. S.; CICARELLI, R. M. B.; MOREIRA, R.** Trypanocidal activity of fruits extracts of *Solanum lycocarpum* St. Hill. on *Trypanosoma brucei* strain. 2012. (Apresentação de Trabalho/Congresso).

**15. SILVA, F. A. J.; RODRIGUES, D. F.; VELÁSQUEZ, A. M. A.; KOHATSU, A. A. N.; REGASINI, L. O.; SILVA, D. H. S.; CICARELLI, R. M. B.** Evaluation of Trypanocidal activity of *Distictella mansoana*, *Jacaranda puberula* and *Stizophyllum perforatum* extracts on *Trypanosoma cruzi* Y strain. 2012. (Apresentação de Trabalho/Congresso).

**16. VELÁSQUEZ, A. M. A.; Garcia, G.; CUENCA, C.; JIMENEZ, E.; CEBALLOS, C.; SANTORO, A.; SANCHEZ, A.; CORENA, M. P.; LINSER, P. J.** Clonación y Localización de una Beta Anhidrasa Carbónica a Partir del Vector Africano de Malaria (*Anophles gambiae*) y del Vector Suramericano de Fiebre Amarilla. 2005. (Apresentação de Trabalho/Simpósio).

**17. VELÁSQUEZ, A. M. A.; Garcia, G.; CEBALLOS, C.; CUENCA, C.; JIMENEZ, E.; SANTORO, A.; SANCHEZ, A.; CORENA, M. P.; LINSER, P. J.** Clonación y Localización de una Beta Anhidrasa Carbónica a Partir del Vector Africano de Malaria (*Anophles gambiae*) y del Vector Suramericano de Fiebre Amarilla. 2005. (Apresentação de Trabalho/Congresso).

**18. ARENAS VELÁSQUEZ, A. M.; Garcia, G.; JIMENEZ, E.; CEBALLOS, C.; CUENCA, C.; SANTORO, A.; SANCHEZ, A.; CORENA, M. P.; LINSER, P. J.** Beta Anhidrasa Carbónica a Partir del Vector Africano de Malaria (*Anophles gambiae*) y del Vector Suramericano de Fiebre Amarilla (*Stegomyia aegypti*). 2005. (Apresentação de Trabalho/Congresso).

**19. ARENAS VELÁSQUEZ, A. M.; Garcia, G.; JIMENEZ, E.; CEBALLOS, C.; SANTORO, A.; SANCHEZ, A.; CORENA, M. P.** Clonación y Localización de una Beta Anhidrasa Carbónica a Partir del Vector Africano de Malaria (*Anophles gambiae*) y del Vector Suramericano de Fiebre Amarilla. Referências adicionais: Colômbia/Espanhol. 2005. (Apresentação de Trabalho/Outra).

#### **Outras produções bibliográficas**

**1. MARTINS, G.; MAGALHAES, N.; SILVA, F. A. J.; VELÁSQUEZ, A. M. A.; RODRIGUES, D. F.; KOHATSU, A. A. N.; PLANETA, C. S.; CICARELLI, R. M. B.; MOREIRA, R.** Trypanocidal activity of fruits extracts of *Solanum lycocarpum* St. Hill. on *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma brucei* strains. 333 Seventh Avenue New York, N: Thieme, 2012 (Resumo Planta Medica).

## Patentes

1. Santo, R; Gonzalez, E. R. P.; GRAMINHA, M. A. S.; **VELÁSQUEZ, A. M. A.** Compostos guanidínicos como novos agentes leishmânicos. 2016, Brasil. Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: 16CI080, título: "Compostos guanidínicos como novos agentes leishmânicos". Instituição de registro: AUIN – Agência Unesp de Inovação. Depósito: 08/12/2016 Instituição financiadora: FAPESP.

## Bancas

### Participação em bancas de comissões julgadoras

1. **ARENAS VELÁSQUEZ, ANGELA MARÍA.** XXV Congresso de Iniciação Científica da Unesp. 2013. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.

## Participação em eventos, congressos, exposições e feiras

1. "A IMPORTÂNCIA DO PLANENJAMENTO DIDÁTICO PEDAGÓGICO? III Ciclo de Seminários promovido pelo Subprojeto PIBID Química. Unesp. Araraquara. 2016. (Seminário).
2. IV International Symposium on Drug Discovery. Antiprotozoa activity *in vitro* of cyclopalladated complex against *Leishmania amazonensis* and *Trypanosoma cruzi*. 2015. (Simpósio).
3. Workshops Australia-UNESP. *In vitro* and *in vivo* leishmanicidal activity of a cyclopalladated compound against *Leishmania amazonensis*. 2015. (Outra).
4. XXXI Annual Meeting of the Brazilian Society of Protozoology / XLII Annual Meeting on Basic Research in Chagas Disease. *Trypanosoma cruzi* tci, tcii, tciii and tcv isolated from *Triatoma lenti*, *Triatoma melanocephala*, *Triatoma rubrovaria* and *Triatoma sordida* collected in Bahia and Rio grande do sul, Brazil. 2015. (Encontro).
5. XXXI Annual Meeting of the Brazilian Society of Protozoology / XLII Annual Meeting on Basic Research in Chagas Disease. Evaluation of rlc36 protein potential role in *Leishmania infantum* (syn. *Leishmania chagasi*) life cycle. 2015. (encontro).
6. XXXI Annual Meeting of the Brazilian Society of Protozoology / XLII Annual Meeting on Basic Research in Chagas Disease. Leishmanicidal activity of a binuclear cyclopalladated complex against *Leishmania amazonensis*: *In vitro* and *In vivo* analyses and potential Topoisomerase IB Inhibitor. 2015. (Encontro).
7. Workshop. Entrepreneurship for graduate in chemistry: a glance for brazilian competitiveness innovation & development. 2014. (Outra).
8. X Congreso de Protozoología y enfermedades parasitarias. Evaluation of Leishmanicidal and Tripanocidal activity of Cyclopalladated Complex. 2014. (Congresso).
9. XXX Annual Meeting of the Brazilian Society of Protozoology / XLI Annual Meeting on Basic Research in Chagas Disease i. Evaluation antileishmanial activity and inhibitory effect of palladium compounds on DNA topoisomerase (*LiTOP1B*) of *Leishmania infantum*. 2014. (Encontro).

10. 5th Symposium on Biological Chemistry, Health and Medicine. Frontier and New Perspectives. 2013. (Simpósio).
11. 5th Symposium on Biological Chemistry, Health and Medicine. Frontier and New Perspectives. Evaluation of Trypanocidal Activity of Binuclear Cyclopalladated Based on N,N-dimethylbenzylamine. 2013. (Simpósio).
12. Workshop on Drug Design and Neglected Tropical Diseases. 2013. (Oficina).
13. 13 International Congress of the Society for Ethnopharmacology. Trypanocidal activity of fruits extracts of *Solanum lycocarpum* St. Hill on *Trypanosoma brucei* strain. 2012. (Congresso).
14. 43 International Symposium on Essential Oils. Chemical composition and trypanocidal activity evaluation of essential oils from *Hedychium coronarium* against *Trypanosoma brucei* strains. 2012. (Simpósio).
15. Congresso Farmacêutico: Assistência Farmacêutica. 2012. (Seminário).
16. Congresso Farmacêutico: Atuação do Farmacêutico na Indústria de Bens de Consumo. 2012. (Seminário).
17. Congresso Farmacêutico: Treinamento da Linha Health Care. 2012. (Congresso).
18. II Congresso Farmacêutico da UNESP. 2012. (Congresso).
19. International Congress on Natural Products Research. Trypanocidal activity of fruits extracts of *Solanum lycocarpum* St. Hill on *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma brucei* strains. 2012. (Congresso).
20. I Semana Internacional de Fitoterapia - UNESP- Faculdade de Ciências Farmacêuticas. 2012. (Outra).
21. SBPz. Evaluation of the trypanocidal activity of 1,4-naphthoquinones against *Trypanosoma brucei* strains. 2012. (Congresso).
22. SBPz. Evaluation of the susceptibility of epimastigote strains from *T. cruzi* to ferrocenyl diamines. 2012. (Congresso).
23. Search for new drug targets using molecular and cell biology approaches. 2012. (Simpósio).
24. Whorkshop 2012 Programas de Pós-Graduação em Química e Biotecnología - IQ-UNESP. 2012. (Outra).
25. XVIII International Congress for Tropical Medicine and Malaria and XLVIII Congress of the Brazilian Society of Tropical Medicine. Evaluation of the Trypanocidal activity of diamines and ferrocenyl diamines against *Trypanosoma brucei* strains. 2012. (Congresso).
26. XXVIII Brazilian Annual Meeting of Applied Research on Chagas Disease, XVI Brazilian Annual Meeting of Applied reserach on Leishmaniasis and III Latin American Congress on Travel Medicine. Evaluation of the trypanocidal activity of diamines and ferrocenyl diamines against *Trypanosoma brucei* strains. 2012. (Congresso).
27. 35a SEMANA DA QUÍMICA. 2011. (Outra).
28. IV Workshop *All Pharma Junior* - Oportunidades do Mundo Farmacêutico. 2011. (Outra).
29. Workshop: Uso de recursos da biodiversidade e sua transferência. 2011. (Outra).
30. II SIMPOSIO DE QUIMICA APLICADA. VII CONGRESO DE ESTUDIANTES DE QUIMICA. Clonación y Localización de una Beta Anhidrasa Carbónica a Partir del Vector Africano de Malaria (*Anophles gambiae*) y del Vector Suramericano de Fiebre Amarilla (*Stegomyia aegypti*). 2005. (Congresso).



31. V SIMPOSIO INVESTIGACION EN CIENCIAS BIOLOGICAS. BIOLOGIA, SALUD Y ETICA. Clonación y Localización de una Beta Anhidrasa Carbónica a Partir del Vector Africano de Malaria (*Anopheles gambiae*) y del Vector Suramericano de Fiebre Amarilla (*Stegomyia aegypti*). 2005. (Simpósio).
32. XL CONGRESO NACIONAL DE CIENCIAS BIOLOGICAS. Clonación y Localización de una Beta Anhidrasa Carbónica a Partir del Vector Africano de Malaria (*Anopheles gambiae*) y del Vector Suramericano de Fiebre Amarilla (*Stegomyia aegypti*). 2005. (Congreso).
33. XXXII CONGRESO SOCIEDAD COLOMBIANA DE ENTOMOLOGIA. Clonación y Localización de una Beta Anhidrasa Carbónica a Partir del Vector Africano de Malaria (*Anopheles gambiae*) y del Vector Suramericano de Fiebre Amarilla (*Stegomyia aegypti*). 2005. (Congreso).
34. X ENCUENTRO NACIONAL DE ESTUDIANTES DE QUIMICA. Clonación y Localización de una Beta Anhidrasa Carbónica a Partir del Vector Africano de Malaria (*Anopheles gambiae*) y del Vector Suramericano de Fiebre Amarilla (*Stegomyia aegypti*). 2004. (Encontro).
35. VI CONGRESO NACIONAL ESTUDIANTIL DE QUIMICA PURA Y APLICADA. 2003. (Congreso).

#### **Organização de eventos, congressos, exposições e feiras**

1. VELÁSQUEZ, A. M. A.. I SEMANA INTERNACIONAL DE FITOTERAPIA DE ARARAQUARA - SP. 2012. (Outro).
2. ARENAS VELÁSQUEZ, A. M.. XL Congreso Nacional de Ciencias Biológicas. 2005. (Congreso).
3. ARENAS VELÁSQUEZ, A. M.. VI CONGRESO NACIONAL ESTUDIANTIL DE QUIMICA PURA Y APLICADA. 2003. (Congreso).

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, minha família, amigos e colegas pelo apoio, ajuda e incentivo, sem o qual o alcance de nossos objetivos se faz mais difícil e pesado. É muito importante contar com pessoas experientes e dispostas a nos guiar nas dificuldades que os caminhos apresentam.

Para meus pais, Mauro e Dora, “*Gracias*” por terem sido e serem sempre o pilar da minha vida, estou muito agradecida a vocês pelos valores e formação de caráter que me inculcaram, coisas importantes e fundamentais para terminar tudo o que na vida se começa e fazê-lo com amor e convicção. “*Porque eu amo tudo por inteiro, não pela metade*”.

Para meus amigos, Elsa, Anayza, Kaleo e Klarck, obrigada de novo por todo o apoio. Vocês sempre estiveram presentes e atentos para me lembrar que na vida tudo tem um porquê, tudo tem uma solução e sempre existem pessoas dispostas a nos fazer rir, até mesmo nos piores momentos. Sem vocês estes seis anos de pós-graduação não teriam sido os mesmos. “*Os amigos que tens por verdadeiros, agarra-os a tua alma em fios de aço, mas não procuréis distração ou festa com qualquer camarada sem critério*”.

Obrigada a todos os colegas do laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular de Tripanossomatídeos pela paciência, pelo intercambio científico/cultural e por todos os dias de bancada que fizeram de mim uma pesquisadora muito mais corajosa e determinada. Especial agradecimento ofereço à Kely e Alex, porque entre muitos colegas, sempre há de existir amigos que nos brindam coisas além do conhecimento.

Em especial, muito obrigada à Profa. Dra. Marcia Graminha, que me ensinou o verdadeiro significado da palavra professora e orientadora. Obrigada pela oportunidade e confiança que me brindou, por abrir as portas de seu laboratório para mim e pela paciência e ajuda em muitos aspectos que foram além da pesquisa. Você é um exemplo a seguir. Desejo que este seja só o início de uma longa e sólida parceria, porque você é a pesquisadora, a colega e a amiga que quero ter por perto para a vida toda. Deus nos ouça aos pós-graduandos e que pessoas como você se multipliquem para que nossas pesquisas sejam mais produtivas e agradáveis.

Estendo também meus agradecimentos aos colaboradores científicos que, além de propiciarem a geração de boa parte do conteúdo desta Tese, contribuíram de algum modo para ampliar meus conhecimentos: Prof. Dr. Pio Colepicolo Neto (IQ-USP, São Paulo), Profa. Dra. Amanda Martins Baviera (FCFAr-UNESP, Araraquara), Prof. Dr. Antonio Eduardo Mauro



(IQ-UNESP, Araraquara), Prof. Dr. Alessandro Desideri (Università degli Studi di Roma "Tor Vergata", Italia), Prof. Dr. João Aristeu da Rosa (FCFAR-UNESP, Araraquara), Profa. Dra. Chung M. Chin (FCFAR-UNESP, Araraquara), Dr. Rodrigo Alves de Souza (IQ-UNESP, Araraquara), Dr. Vutey Venn (Università degli Studi di Roma "Tor Vergata", Italia), Dra. Silvia Castelli (Università degli Studi di Roma "Tor Vergata", Italia), Dra. Mariana Santoro (Università degli Studi di Roma "Tor Vergata", Italia), Dr. Willian Campos Ribeiro (IQ-UNESP, Araraquara), Dra. Renata Pires de Assis (FCFAR-UNESP, Araraquara), Dra. Aline Rimoldi Ribeiro (UNICAMP, Campinas), Dr. Elmo Eduardo Almeida – Amaral (FIOCRUZ, Rio de Janeiro), Msc. Mateus Scontri (FCFar-UNESP, Araraquara), Dra. Aline de Lima Leite (USP-Bauru) e Profa. Dra. Marilia Afonso Rabelo Buzalaf (USP-Bauru).

Obrigada ao Instituto de Química e Faculdade de Ciências Farmacêuticas do câmpus de Araraquara, UNESP, pela infraestrutura e ao pessoal destas instituições pela colaboração e suporte técnico, especialmente ao pessoal da pós-graduação por sempre serem tão prestativos.

Agradeço também à CAPES, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, e ao governo do Brasil pela bolsa concedida e à FAPESP pelo financiamento do projeto 2013/08248-1.

Obrigada a todos mais uma vez por serem parte da construção desta Tese e por terem participado direta ou indiretamente do meu processo de formação como Doutora, pesquisadora e principalmente, por terem enriquecido minha vida com multiplex ensinanças.

E finalmente, obrigada a todas as almas de camundongos que contribuíram com sua vida para a geração destes dados, seu sacrifício não foi em vão.

Deus... como sempre, deixo você no comando!

*Obrigada*

*“No te rindas, aún estás a tiempo  
De alcanzar y comenzar de nuevo,  
Aceptar tus sombras,  
Enterrar tus miedos,  
Liberar el lastre, ...Retomar el vuelo.  
No te rindas que la vida es eso,  
Continuar el viaje,*

*Perseguir tus sueños,  
Destruir el tiempo,  
Correr los escombros,  
Y destapar el cielo.  
No te rindas, por favor no cedas,  
Aunque el frío queme,  
Aunque el miedo muerda,  
Aunque el sol se esconda,  
Y se calle el viento,  
Aún hay fuego en tu alma,  
aún hay vida en tus sueños... ” Mario Benedetti*

“...En el camino aprendí, que llegar alto no es crecer,  
que mirar no siempre es ver, ni escuchar es oír.  
Ni lamentarse es sentir, ni acostumbrarse es querer.  
En el camino aprendí, que andar solo no es soledad  
que cobardía no es paz, ni ser feliz sonreír.  
Y que peor que mentir, es silenciar la verdad.  
Y en el camino aprendí, que la humildad no es sumisión.  
La humildad es ese don que suele confundir,  
no es lo mismo ser servil que ser un buen servidor.  
Cuando vayan mal las cosas, como a veces suelen ir...  
Cuando tu camino sólo ofrezca cuestas que subir,  
Cuando tengas poco haber, pero mucho que pagar,  
Y precisas sonreír aún teniendo que llorar...  
Cuando el dolor te agobie y no puedas ya sufrir,  
Descansar acaso debes, pero nunca desistir.  
Cuando todo esté peor... ¡más debemos insistir!” Anónimo /Rafael Amor

***“A imaginação é mais importante que o conhecimento” Albert Einstein***

## RESUMO

As leishmanioses são doenças mundialmente distribuídas, encontradas nas áreas tropicais e subtropicais do mundo e que são caudas por protozoários parasitos do gênero *Leishmania* spp. A pesar dos inúmeros problemas associados aos tratamentos disponíveis (como alta toxicidade dos fármacos, limitada eficácia e casos de resistência haverem surgido), ainda estas doenças são negligenciadas pelas indústrias farmacêuticas e pelos governos. Na procura por novos fármacos com amplo espectro de ação e baixa toxicidade, há evidências que sugerem que complexos de metais de transição podem atuar em diversos compartimentos ou organelas dos protozoários, além de apresentar baixa toxicidade no hospedeiro mamífero. No presente trabalho, realizou-se a avaliação leishmanicida *in vitro* de seis compostos ciclopaladados, [Pd(dmba)( $\mu$ -Cl)]<sub>2</sub> (**CP1**), [Pd(dmba)( $\mu$ -N<sub>3</sub>)]<sub>2</sub> (**CP2**), [Pd(dmba)( $\mu$ -NCO)]<sub>2</sub> (**CP3**), [Pd(dmba)Cl(isn)] (**CP4**), [Pd(dmba)(N<sub>3</sub>)(isn)] (**CP5**) e [Pd(dmba)(NCO)(isn)] (**CP6**) e seus correspondentes ligantes livres, Hdmba: *N,N*-dimetilbenzilamina e isn: isonicotinamida. O composto **CP2** inibiu o crescimento das formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* (IC<sub>50</sub> = 13,2 ± 0,7  $\mu$ M), reduz a proliferação das formas amastigotas intracelulares (IC<sub>50</sub> = 10,2 ± 2,2  $\mu$ M) e apresentou um baixo efeito citotóxico frente a macrófagos peritoneais (CC<sub>50</sub> = 506,0 ± 10,7  $\mu$ M). Dados *in vitro* da atividade anti-*T. cruzi* e anti-*T. brucei*, parasitos causadores das doenças de Chagas e do sono, respectivamente, também demonstraram que os compostos ciclopaladados apresentam amplo espectro de ação constituindo-se em excelentes candidatos para o tratamento das doenças negligenciadas em estudo. O composto **CP2** apresentou-se para as formas amastigotas intracelulares de *L. amazonensis* pelo menos 50 vezes mais seletivo e 200 vezes mais seletivo para as amastigotas de *T. cruzi* vs. células de mamífero. Em estudos *in vivo*, utilizando o modelo BALB/c infectado com *L. amazonensis*, **CP2** (0,35 mg/Kg/dia) não apresentou toxicidade, quando investigados marcadores bioquímicos de função renal e hepática, em estudos *in silico* mostrou uma permeabilidade de 100% para absorção intestinal, e reduziu em 80% a carga parasitária dos animais, resultado promissor e comparável à anfotericina B (2 mg/Kg em dias alternados), fármaco atualmente utilizado no tratamento das leishmanioses. Diante das potencialidades deste composto em estudos aprofundados do mecanismo de ação mostrou-se que **CP2** é capaz de inibir a etapa de clivagem da DNA Topoisomerase 1B de *Leishmania*. Análise proteômica comparativa (eletroforese bidimensional, seguida por espectrometria de massas) foram realizadas para identificar proteínas diferencialmente expressas em *L. amazonensis* na ausência/ presença de **CP2** e assim determinar os eventos moleculares gerados em cascata a partir da inibição da DNA Topoisomerase do parasito. Dentre as proteínas encontradas nos ensaios supracitados, destacam-se chaperoninas associadas à diferentes estresses (calreticulina, proteína de choque térmico 10KDa -HSP10-, HSP70, GRP78 e dissulfureto isomerase), proteínas que atuam no processo de detoxificação celular (tripanotona reductase, peroxiredoxina, triparedoxina peroxidase) e outras proteínas associadas com diversos processos biológicos que podem estar relacionados com o processo de Morte Celular Programada em *Leishmania*.

**Palavras-chave:** Leishmanioses. Doença de Chagas. *Leishmania amazonensis*. *Trypanosoma cruzi*. DNA topoisomerase 1B. Complexo ciclopaladado.

## ABSTRACT

Leishmaniasis are diseases globally distributed in tropical and subtropical areas of the world and *Leishmania* spp. are the etiological agents of the diseases. Numerous problems associated with available treatments of the disease are still unsatisfactory because currently available drugs are highly toxic, little effectiveness and drug resistance cases have emerged. Furthermore, leishmaniasis are a neglected disease by pharmaceutical industries and governments. In the search for new drugs with a broad spectrum of action and low toxicity, there is evidence to suggest that transition metal complexes can act in several compartments or organelles of protozoa, as well as to present low toxicity in the mammalian host. In this work, we evaluated the leishmanicidal and trypanocidal *in vitro* activity of six cyclopalladated compounds: [Pd(dmba)( $\mu$ -Cl)]<sub>2</sub> (**CP1**), [Pd(dmba)( $\mu$ -N<sub>3</sub>)]<sub>2</sub> (**CP2**), [Pd(dmba)( $\mu$ -NCO)]<sub>2</sub> (**CP3**), [Pd(dmba)Cl(isn)] (**CP4**), [Pd(dmba)(N<sub>3</sub>)(isn)] (**CP5**), [Pd(dmba)(NCO)(isn)] (**CP6**) and the free ligands, Hdmba: *N,N*- dimethylbenzylamine e isn: isonicotinamide. The cyclopalladated complexes **CP2** inhibited the growth of the promastigote forms of *Leishmania amazonensis* (IC<sub>50</sub> = 13,2 ± 0,7  $\mu$ M), reduced the proliferation of intracellular amastigote forms (IC<sub>50</sub> = 10,2 ± 2,2  $\mu$ M) and showed a low cytotoxic effect against peritoneal macrophages (CC<sub>50</sub> = 506,0 ± 10,7  $\mu$ M). *In vitro* assays against *T. cruzi* and *T. brucei*, parasites that cause Chagas disease and sleeping sickness, respectively, demonstrated that cyclopalladate compounds have a wide spectrum of action and constitute an excellent candidates for the treatment of these neglected diseases. **CP2** was at least fifty-times more selective for intracellular amastigote forms of *L. amazonensis* and two hundred-times more selective for intracellular amastigote forms of *T. cruzi* vs. mammalian cells. For *in vivo* assays, **CP2** (0.35 mg/Kg/day) was not toxic to BALB / c mouse infected with *L. amazonensis*, no changes were observed in biochemical markers of renal/hepatic function, in *in silico* studies showed a 100% of permeability for intestinal absorption and the parasite load of the animals was reduced to 80%, like amphotericin B (2 mg/Kg in alternate days), the drug currently used in the leishmaniasis treatment. In-depth studies of the mechanism of action have shown that **CP2** can inhibit the cleavage step of *Leishmania* DNA Topoisomerase 1B. Comparative proteomic analysis (two-dimensional electrophoresis, followed by mass spectrometry) were performed to identify proteins differentially expressed in *L. amazonensis* in the absence / presence of **CP2** and thus to determine molecular events generated from the inhibition of parasite DNA Topoisomerase. We found in the proteomic analysis chaperonins associated with different stresses (calreticulin, putative 10 kDa heat shock protein, putative heat-shock protein hsp70, putative glucose-regulated protein 78, protein disulfide-isomerase), proteins that act in the process of cellular detoxification (trypanothione reductase, peroxidoxin, trypanedoxin peroxidase) and other proteins associated with several biological processes associated with a possible programmed cell death in *Leishmania*.

**Key-words:** Leishmaniasis. Chagas disease. *Leishmania amazonensis*. *Trypanosoma cruzi*. DNA topoisomerase 1B. Cyclopalladated compounds.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Ciclo de vida do parasito <i>Leishmania spp.</i> .....	29
Figura 2- Fármacos utilizados no tratamento das leishmanioses .....	32
Figura 3- Ciclo de vida do <i>Trypanosoma cruzi.</i> .....	34
Figura 4- Fármacos utilizados no tratamento da doença de Chagas.....	36
Figura 5- Ciclo de vida do <i>Trypanosoma brucei.</i> .....	37
Figura 6- Fármacos utilizados no tratamento da doença do sono.....	38
Figura 7- Estrutura da DNA topo 1B humana (hTopoI) vs. a DNA topo 1B de <i>L. donovani</i> (LdTopo1B).. .....	43
Figura 8- Compostos com potencial inibidor de topoisomerases podem direcionar a célula a MCP.....	46
Figura 9- Mecanismo de formação do ciclopaladado <b>CP1</b> , Pd(dmba)( $\mu$ -Cl) <sub>2</sub> .....	50
Figura 10- Estruturas dos compostos ciclopaladados.....	67
Figura 11- Eficácia do tratamento <i>in vivo</i> de <b>CP2</b> e anfotericina B frente a camundongos BALB/c infectados com <i>L. amazonensis</i> .....	75
Figura 12- Medida do A) número de amastigotas intracelulares por 100 células nucleadas do hospedeiro e B) determinação do índice de LDU (número de amastigotas de <i>Leishmania</i> por 1000 células nucleadas por peso do órgão) nos diferentes grupos de animais BALB/c infectados com <i>L. amazonensis</i> e tratados com fármaco de referência (anfotericina B, 2 mg/Kg dias alternados), veículo (PBS) e composto ciclopaladado <b>CP2</b> em diversas concentrações.....	77
Figura 13- Quantificação da carga parasitária por PCR em tempo real das lesões de pele de camundongos BALB/c infectados com <i>L. amazonensis</i> nos diferentes grupos tratados com fármaco de referência (anfotericina B, 2 mg/Kg dias alternados), veículo (PBS) e composto ciclopaladado <b>CP2</b> em diferentes concentrações. ....	78
Figura 14- Gráficos da PCR em tempo real dos diversos <i>primers</i> testados para a quantificação relativa da carga parasitária. ....	80
Figura 15- Níveis plasmáticos de biomarcadores de função hepática e renal em camundongos BALB/c não infectados e infectados com <i>L. amazonensis</i> e tratados com 0,2; 0,35 e 0,70 mg/Kg/dia de <b>CP2</b> . .....	82
Figura 16- Estruturas de ressonância (I) e (II) e híbrido de ressonância de <b>CP2</b> utilizada para as análises <i>in silico</i> , ADMET. ....	85

Figura 17- Ensaio de inibição dose dependente da topoisomerase de <i>L. donovani</i> . ....	88
Figura 18- Cinética de clivagem da <i>LdTopo1B</i> na presença do composto <b>CP2</b> .....	89
Figura 19- Gel bidimensional SDS-PAGE 12,5% corado com <i>coomasie blue</i> dos extratos proteicos de promastigotas de <i>L. amazonensis</i> tratadas e não tratadas com composto ciclopaldado <b>CP2</b> . Faixa de pH 3 a 10. ....	91
Figura 20- Gel bidimensional SDS-PAGE 12,5% corado com <i>coomasie blue</i> dos extratos proteicos de promastigotas de <i>L. amazonensis</i> tratadas e não tratadas com composto ciclopaldado <b>CP2</b> . Faixa de pH 4 a 7. ....	92
Figura 21- Categorização biológica das proteínas encontradas de <i>L. amazonensis</i> após o tratamento com <b>CP2</b> de acordo com UNIPROT. ....	93
Figura 22- Quantificação dos níveis relativos de expressão do cDNA dos genes da calreticulina, dissulfeto isomerase, citocromo C e citocromo C oxidase sub IV por PCR em tempo real de promastigotas de <i>L. amazonensis</i> na presença ou ausência do composto ciclopaldado <b>CP2</b> .....	96
Figura 23- Análise da fragmentação do DNA na presença de <b>CP2</b> . ....	97
Figura 24- Curva de crescimento de promastigotas de <i>L. amazonensis</i> na ausência ( <i>L.a</i> -) e presença de 13,2 ( <i>L.a</i> +) e 131,5 $\mu$ M ( <i>L.a</i> 10X) de <b>CP2</b> ; e curva de crescimento de promastigotas de <i>L. amazonensis</i> resistentes a <b>CP2</b> ( <i>L.a</i> R-) submetidas aos mesmos tratamentos .....	98

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Oligonucleotídeos iniciadores testados na quantificação relativa por PCR em tempo real. ....	57
Tabela 2. Variação da concentração de oligonucleotídios utilizados para PCR em tempo real e sua eficiência. ....	58
Tabela 3. Valores da equação da reta e da eficiência para o alvo (G6PD <i>Leishmania</i> ) e o controle endógeno (GAPDH BALB/c). ....	58
Tabela 4. Oligonucleotídeos iniciadores utilizados para a quantificação absoluta por PCR em tempo real dos genes que codificam para as proteínas diferencialmente expressas observadas na análise proteômica comparativa após o tratamento de formas promastigotas de <i>L. amazonensis</i> ao composto ciclopaladado <b>CP2</b> . ....	65
Tabela 5. Atividade leishmanicida, tripanocida (IC <sub>50</sub> ) e citotóxica (CC <sub>50</sub> ) <i>in vitro</i> de compostos ciclopaladados (μmol. L <sup>-1</sup> ) e seus índices de seletividade (IS). Em negrito ressaltam-se os índices de seletividade dos compostos ciclopaladados ≥ 10. Cada valor é a média de três experimentos realizados em triplicado ± desvio padrão. ....	69
Tabela 6. Comparação da atividade leishmanicida e tripanocida <i>in vitro</i> de compostos ciclopaladados diluídos em DMSO e DMF. Cada valor é a média de três experimentos realizados em triplicado ± desvio padrão. ....	71
Tabela 7. Citotoxicidade <i>in vitro</i> de compostos ciclopaladados, em DMSO e DMF, contra macrófagos peritoneais de camundongo. Cada valor é a média de três experimentos realizados em triplicado ± desvio padrão. ....	73
Tabela 8. Propriedades ADMET prevista de <b>CP2</b> . ....	86
Tabela 9. Suceptibilidade de <i>Leishmania amazonensis</i> selvagem e resistente a <b>CP2</b> . ....	99



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADMET	Absorção, Distribuição, Metabolismo, Excreção, Toxicidade
CC <sub>50</sub>	Metade da concentração citotóxica - citotoxicidade
CP1	[Pd(dmba)(μ-Cl)] <sub>2</sub>
CP2	[Pd(dmba)(μ-N <sub>3</sub> )] <sub>2</sub>
CP3	[Pd(dmba)(μ-NCO)] <sub>2</sub>
CP4	[Pd(dmba)Cl(isn)]
CP5	[Pd(dmba)(N <sub>3</sub> )(isn)]
CP6	[Pd(dmba)(NCO)(isn)]
CPT	Camptotecina
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNDi	<i>Drugs for Neglected Diseases Initiative</i>
DNs	Doenças Negligenciadas
DP	Desvio Padrão
DTT	Ditiotreitol
Ero1p	Oxidoreductina
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
G6PD	glucose-6-fosfato desidrogenase
GAPDH	gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase
GRP78	<i>putative glucose-regulated protein 78</i>
Hdmba	<i>N,N</i> -dimetilbenzilamina
HSP10	putative 10 kDa heat shock protein
HSP70	<i>heat-shock protein hsp70</i>
hTopoI	DNA topoisomerase I humana
IC <sub>50</sub>	metade da concentração inibitória
IEF	focalização isoelétrica
IS	Índice de Seletividade
isn	Isonicotinamida
LaR	<i>Leishmania amazonensis</i> Resistente a <b>CP2</b>
LC	Leishmaniose cutânea
LdTopo1B	DNA topoisomerase 1B de <i>Leishmania donovani</i>
LDU	<i>Leishman-Donovan Units</i>
LMC	Leishmaniose mucocutânea
LPG	fosfolipoglicano
LV	Leishmaniose visceral
m <sup>7</sup> G	7-metilguanossina cap
MCP	Morte Celular Programada
mRNA	RNA mensageiro
MS	espectrômetro de massas
NTC	Mix de reação sem amostra
OMS	Organização Mundial da Saúde

OPS	Organização Panamericana da Saúde
PBS	Tampão fosfato-salino ou <i>Phosphate Buffered Saline</i>
PDI	Dissulfeto Isomerase
<i>pkCSM</i>	<i>Predicting Small-molecule Pharmacokinetic and toxicity properties using Graph-Based Signatures</i>
qPCR	PCR em tempo real ou PCR quantitativa
RE	Retículo endoplasmático
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
rRNA	RNA ribossômico
SDS	Dodecil sulfato de sódio
SDS-PAGE	<i>Sodium Dodecyl Sulfate-PolyAcrylamide Gel Electrophoresis</i>
SL	<i>Spliced Leader</i>
SNC	Sistema Nervoso Central
TOPO I	DNA topoisomerase tipo I
TOPOII	DNA topoisomerase tipo II
Tpri	Triparedoxina peroxidase
Tryr	Trypanotona reductase
UNIPROT	Universal Protein Resource
UPR/RPM	<i>Unfolded Protein Response</i> / Resposta de Proteínas mal dobradas

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>26</b>
1.1	<i>Leishmania</i> spp e tratamentos atualmente disponíveis para as leishmanioses .....	27
1.2	<i>T. cruzi</i> e tratamento atualmente disponível para a doença de Chagas.....	33
1.3	<i>T. brucei</i> e o tratamento atualmente disponível para a doença do sono .....	36
1.4	Compostos metálicos como opções terapêuticas para DNs.....	39
1.4.1	Compostos de Paládio e seu potencial anti-protozoário .....	41
1.5	As DNAs topoisomerases e seu potencial como alvo terapêutico.....	42
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>48</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E METODOS .....</b>	<b>50</b>
3.1	<i>Screening in vitro</i> de Compostos Ciclopaladados frente a Tripanossomatídeos .....	50
3.1.1	Compostos Ciclopaladados.....	50
3.1.2	Parasitas.....	51
3.1.3	Bioensaio para avaliar atividade leishmanicida e tripanocida <i>in vitro</i> .....	52
3.1.4	Determinação da citotoxicidade contra macrófagos peritoneais de camundongos <i>Swiss</i> de compostos ativos pela técnica colorimétrica do MTT .....	54
3.1.5	Avaliação <i>in vitro</i> da atividade antiprotozoa de compostos ativos contra formas amastigotas intracelulares de <i>L. amazonensis</i> e <i>T. cruzi</i> .....	54
3.1.6	Cálculo do Índice de seletividade (IS).....	55
3.2	Bioensaio para avaliar a eficácia de tratamento com CP2 frente a camundongos BALB/c infectados com <i>L. amazonensis</i> .....	55
3.2.1	Ensaio <i>in vivo</i> .....	55
3.2.2	Biomarcadores de Função hepática e renal.....	56
3.2.3	Predições das propriedades farmacocinéticas e da toxicidade <i>in silico</i> de CP2 .....	57
3.2.4	Determinação da Carga Parasitária.....	57
3.2.4.1	LDU: <i>Leishman-Donovan Units</i> .....	57
3.2.4.2	PCR em tempo real.....	57
3.2.5	Análise Estatística.....	60
3.3	Mecanismos de ação de CP2 frente a <i>Leishmania amazonensis</i> .....	60
3.3.1	Ensaio de Relaxamento do DNA .....	60
3.3.2	Cinética de Clivagem.....	61
3.3.3	Análise Proteômica.....	61
3.3.3.1	Obtenção do Extrato proteico .....	61
3.3.3.2	Eletroforese em Primeira Dimensão (IEF) .....	62
3.3.3.3	Equilíbrio das tiras IPG .....	62
3.3.3.4	Eletroforeses em segunda dimensão (SDS-PAGE).....	62
3.3.3.5	Análise dos <i>spots</i> por Espectrometria de Massas .....	63
3.3.3.6	Validação das proteínas diferencialmente expressas por qPCR: Extração de RNA, sínteses de cDNA e PCR em tempo real. ....	64
3.3.4	Obtenção de uma cepa de <i>L. amazonensis</i> resistente ao ciclopaladado CP2.....	66
3.3.5	Obtenção de DNA genômico de <i>L. amazonensis</i> sensível e resistente a CP2 para análises da fragmentação do DNA .....	66

<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>67</b>
4.1	Compostos Ciclopaladados Apresentam Atividade Biológica <i>in vitro</i> frente a Tripanossomatídeos .....	67
4.2	CP2 é eficaz no tratamento da leishmaniose cutânea de camundongos BALB/c infectados com <i>L. amazonensis</i> .....	74
4.3	CP2 não produziu alterações nos biomarcadores de função hepática/renal e se mostrou oralmente eficaz com base nas predições das propriedades farmacocinéticas e da toxicidade <i>in silico</i> .....	81
4.3	Mecanismos de ação de CP2 frente a <i>Leishmania amazonensis</i> .....	87
4.4.1	CP2 apresenta um efeito inibidor sobre a DNA topoisomerase 1B de <i>Leishmania</i> .....	87
4.4.2	CP2 interfere no ciclo Catalítico da DNA topoisomerase 1B de <i>Leishmania</i> .....	88
4.4.3	DNA topoisomerase 1B de <i>Leishmania</i> pode ser único alvo de ação de CP2 .....	98
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>102</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>103</b>
	<b>APÊNDICE I.....</b>	<b>118</b>
	<b>APÊNDICE II.....</b>	<b>120</b>
	<b>APÊNDICE III.....</b>	<b>124</b>
	<b>APÊNDICE IV.....</b>	<b>125</b>
	<b>ANEXO I.....</b>	<b>130</b>
	<b>ANEXO II.....</b>	<b>131</b>

## 1 INTRODUÇÃO

As infecções causadas por organismos da família Trypanosomatidae, ordem Kinetoplastida, afetam predominantemente milhões de pessoas no mundo, principalmente, aquelas comunidades pobres e marginalizadas da América Latina, África e Ásia e que têm sido negligenciadas pela indústria farmacêutica e pelos governos (SÜLSEN et al., 2008). Dentre as 17 doenças classificadas como negligenciadas (DNs) pela Organização Mundial da Saúde (OMS), destacam-se as leishmanioses e tripanossomíases, carentes há várias décadas por novos fármacos para seu tratamento e que se encontram amplamente distribuídas nas áreas tropicais e subtropicais do mundo.

As leishmanioses, a doença de Chagas e a doença do sono são causadas por protozoários parasitos taxonomicamente relacionados, que têm características estruturais e bioquímicas similares. Estes incluem um único DNA mitocondrial com um corpo estruturado, o cinetoplasto, organelas específicas para a glicólise; os glicossomos, e um metabolismo único de tiol. Uma análise recente das sequências genômicas tem identificado semelhanças e diferenças nas vias metabólicas entre eles, o que nos leva a compreender a patogênese das doenças e descrever fármacos e alvos moleculares específicos para estas parasitoses (BARRETT; CROFT, 2012). Adicionalmente, o processamento do mRNA em tripanossomatídeos é diferente do processo ocorrido na maioria dos eucariotos, principalmente porque os genes codificadores de proteínas são transcritos em RNA policistrônico nestes organismos (LIANG et al., 2003). Outra característica importante em relação à expressão gênica foi a descoberta do *Spliced Leader* (SL), identificado inicialmente em *Trypanosoma brucei*, relacionado com o passo de maturação de todos os pré-mRNA nucleares em tripanossomatídeos (GÜNZL, 2010). A presença do SL tem duas finalidades, ele funciona em conjunto com a poliadenilação da transcrição policistrônica e fornece o *capping* 7-metilguanossina ( $m^7G$ ) dos mRNA. O processo de *trans-splicing* ocorre através de duas reações de transesterificação, análogos ao processo de *cis-splicing*, mas formando uma estrutura intermediária Y em vez do intermediário de lariat (GÜNZL, 2010; LIANG et al., 2003). Estas características únicas e marcantes em tripanossomatídeos fornecem ferramentas para o desenvolvimento e descoberta de novos fármacos, já que as terapias atualmente disponíveis apresentam muitos problemas como alta toxicidade dos fármacos, limitada eficácia e casos de resistência que têm surgido. Nesse sentido, nosso grupo de pesquisa está envolvido na busca de compostos leishmanicidas, mas que também apresentem efeito inibitório no crescimento de *Trypanosoma cruzi* e *Trypanosoma brucei*, agentes etiológicos

das doenças citadas. O anterior é importante não só do ponto de vista de procura de moléculas com amplo espectro de ação, mas também, porque diversos alvos terapêuticos específicos podem ser explorados.

## 5 CONCLUSÕES

- Sugere-se que **CP2** pode ser considerado um bom candidato para o tratamento da leishmaniose cutânea causada por *L. amazonensis*;
- O composto ciclopaladado **CP2** mostrou *in vitro* boa atividade antiprotozoária contra todas as formas de *L. amazonensis* e *T. cruzi* testadas;
- **CP2** reduz em 80% a carga parasitaria em camundongos BALB/c pela técnica de LDU;
- **CP2** não produz efeitos colaterais notórios nos animais tratados nas três concentrações testadas, o que corrobora as análises *in silico* e os resultados dos biomarcadores de função hepática e renal que demonstraram que a utilização deste composto é segura;
- **CP2** apresentou 100% de AIH segundo as análises *in silico* ADMET, mostrando-se como um composto com potencial para uso oral;
- **CP2** inibe a DNA topoisomerase de *L. donovani* demonstrando maior afinidade pela enzima que pelo DNA;
- Sugere-se que a inibição da DNA topoisomerase 1B de *Leishmania* desencadeia uma série de eventos moleculares em cascata que poderiam levar ao parasito a Morte Celular Programada.



## REFERÊNCIAS

- ALBERT, J.; BOSQUE, R.; CADENA, M.; D'ANDREA, L.; GRANELL, J.; GONZÁLEZ, A.; QUIRANTE, J.; CALVIS, C.; MESSEGUER, R.; BADÍA, J.; BALDOMÀ, L.; CALVET, T.; FONT-BARDIA, M. A new family of doubly cyclopalladated diimines. A remarkable effect of the linker between the metalated units on their cytotoxicity. **Organometallics**, v. 33, n. 11, p. 2862-2873, 2014.
- ALMEIDA, E. T. de; MAURO, A. E.; SANTANA, A. M.; ANANIAS, S. R.; GODOY NETTO, A. V.; FERREIRA, J. G.; SANTOS, R. H. A. Self-assembly of organometallic Pd(II) complexes via CH<sub>3</sub>... $\pi$  interactions: the first example of a cyclopalladated compound with herringbone stacking pattern. **Inorganic Chemistry Communications**, v. 10, n. 12, p. 1394-1398, 2007.
- ALVAR, J.; VÉLEZ, I. D.; BERN, C.; HERRERO, M.; DESJEUX, P.; CANO, J.; JANNIN, J.; DEN BOER, M. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. **PloS One**, v. 7, n. 5, 2012. doi:10.1371/journal.pone.0035671.
- AMATO, V. S.; TUON, F. F.; SIQUEIRA, A. M.; NICODEMO, A. C.; AMATO NETO, V. Treatment of mucosal leishmaniasis in Latin America: systematic review. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 77, n. 2, p. 266-274, 2007.
- ANILANMERT, B. Therapeutic organometallic compounds. In: GALLELI, L. (Ed.). **Pharmacology**. Rijeka: InTech, 2012. Chap. 29, p. 651-680.
- ARRUDA, D. C.; MATSUO, A. L.; SILVA, L. S.; REAL, F.; LEITÃO JUNIOR, N. P.; PIRES, J. H. S.; CAIRES, A. C. F.; GARCIA, D. M.; CUNHA, F. F. M.; PUCCIA, R.; LONGO, L. V. G. Cyclopalladated compound 7a induces apoptosis- and autophagy-like mechanisms in *Paracoccidioides* and is a candidate for paracoccidioidomycosis treatment. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 59, n. 12, p. 7214-7223, 2015.
- BABOKHOV, P.; SANYAOLU, A. O.; OYIBO, W. A.; FAGBENRO-BEYIOKU, A. F.; IRIEMENAM, N. C. A current analysis of chemotherapy strategies for the treatment of human African trypanosomiasis. **Pathogens and Global Health**, v. 107, n. 5, p. 242-252, 2013.
- BAKSH, S.; BURNS, K.; ANDRIN, C.; MICHALAK, M. Interaction of calreticulin with protein disulfide isomerase. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 270, n. 52, p. 31338-31344, 1995.
- BALANÑA-FOUCE, R.; GARCÍA-ESTRADA, C.; PÉREZ-PERTEJO, Y.; REGUERA, R. M. Gene disruption of the DNA topoisomerase IB small subunit induces a non-viable phenotype in the hemoflagellate *Leishmania major*. **BMC Microbiology**, v. 8, n. 113, 2008. doi:10.1186/1471-2180-8-113.
- BALANÑA-FOUCE, R.; PRADA, C. F.; REQUENA, J. M.; CUSHMAN, M.; POMMIER, Y.; ÁLVAREZ-VELILLA, R.; ESCUDERO-MARTÍNEZ, J. M.; CALVO-ALVAREZ, E.; PÉREZ-PERTEJO, Y.; REGUERA, R. M. Indotecan (LMP400) and AM13-55: two novel indenoisoquinolines show potential for treating visceral leishmaniasis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 56, n. 10, p. 5264-5270, 2012.

BALANÑA-FOUCE, R.; ÁLVAREZ-VELILLA, R.; FERNÁNDEZ-PRADA, C.; GARCÍA-ESTRADA, C.; REGUERA, R. M. Trypanosomatids topoisomerase re-visited. New structural findings and role in drug discovery. **International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance**, v. 4, n. 3, p. 326-337, 2014.

BARR, S. D.; GEDAMU, L. Role of peroxidoxins in *Leishmania chagasi* survival. Evidence of an enzymatic defense against nitrosative stress. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 278, n. 12, p. 10816-10823, 2003.

BARRETT, M. P.; CROFT, S. L. Management of trypanosomiasis and leishmaniasis. **British Medical Bulletin**, v. 104, n. 1, p. 175-196, 2012.

BERGMEYER, H. U.; BOWER, G. N.; HORDER, M.; MOSS, D. W. Provisional recommendation on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 2. IFCC method for aspartate aminotransferase. **Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry**, v. 15, p. 39-51, 1977.

BERNT, E.; BERGMEYER, H. U. Urea. In: \_\_\_\_\_. **Methods of enzymatic analysis**. 2nd ed. New York: Academic Press, 1965. p. 401-406.

BERRIDGE, M. J. The endoplasmic reticulum: a multifunctional signaling organelle. **Cell Calcium**, v. 32, n. 5/6, p. 235-249, 2002.

BLACK, D.; DEACON, G.; EDWARDS, G. Observations on the mechanism of halogen-bridge cleavage by unidentate ligands in square planar palladium and platinum complexes. **Australian Journal of Chemistry**, v. 47, n. 2, p. 217-227, 1994.

BODLEY, A. L.; SHAPIRO, T. A. Molecular and cytotoxic effects of camptothecin, a topoisomerase I inhibitor, on trypanosomes and *Leishmania*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 92, n. 9, p. 3726-3730, 1995.

BODLEY, A. L.; CHAKRABORTY, A. S.; XIE, S.; BURRI, C.; SHAPIRO, T. A. An unusual type IB topoisomerase from African trypanosomes. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 100, n. 13, p. 7539-7544, 2003.

BOLLINI, M.; CASAL, J. J.; ALVAREZ, D. E.; BOIANI, L.; GONZÁLEZ, M.; CERECETTO, H.; BRUNO, A. M. New potent imidazoisoquinolinone derivatives as anti-*Trypanosoma cruzi* agents: biological evaluation and structure-activity relationships. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 17, n. 4, p. 1437-1444, 2009.

BRASIL. Ministério de Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual de vigilância da leishmaniose tegumentar americana**. 2. ed. Brasília, DF, 2010. 180 p. (Série A: normas e manuais técnicos).

BRASIL. Ministério de Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Plano Nacional de Saúde. PNS 2012-2015**. Brasília, DF, 2011. 114 p. (Série B: textos básicos de saúde). Disponível em: <[http://conselho.saude.gov.br/biblioteca/Relatorios/plano\\_nacional\\_saude\\_2012\\_2015.pdf](http://conselho.saude.gov.br/biblioteca/Relatorios/plano_nacional_saude_2012_2015.pdf)>. Acesso em: 30 jan. 2017.

BRECKENRIDGE, D. G.; GERMAIN, M.; MATHAI, J. P.; NGUYEN, M.; SHORE, G. C. Regulation of apoptosis by endoplasmic reticulum pathways. **Oncogene**, v. 22, n. 53, p. 8608-8618, 2003.

BRETAGNE, S.; DURAND, R.; OLIVI, M.; GARIN, J.; SULAHIAN, A.; RIVOLLET, D.; VIDAUD, M.; DENIAU, M. Real-time PCR as a new tool for quantifying *Leishmania infantum* in liver in infected mice. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v. 8, n. 4, p. 828-831, 2001.

BRITTINGHAM, A.; MOSSER, D. M. Exploitation of the complement system by *Leishmania* promastigotes. **Parasitology Today**, v. 12, n. 11, p. 444-447, 1996.

BROCCOLI, S.; MARQUIS, J. F.; PAPADOPOULOU, B.; OLIVIER, M.; DROLET, M. Characterization of a *Leishmania donovani* gene encoding a protein that closely resembles a type IB topoisomerase. **Nucleic Acids Research**, v. 27, n. 13, p. 2745-2752, 1999.

BRUN, R.; SCHÖNENBERGER, M. Cultivation and in vitro cloning or procyclic culture forms of *Trypanosoma brucei* in a semi-defined medium. Short communication. **Acta Tropica**, v. 36, n. 3, p. 289-292, 1979.

BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R. **Tietz: fundamentals of clinical chemistry**. 5th ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 2001. 1091 p.

CAIRES, A C. F. Recent advances involving palladium (II) complexes for the cancer therapy. **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry**, v. 7, n. 5, p. 484-491, 2007.

CAIRES, A. C. F.; ALMEIDA, E. T.; MAURO, A. E.; HEMERLY, J. P.; VALENTINI, S. R. Síntese e atividade citotóxica de alguns azido-ciclopalladados estabilizados com ligantes bifosfínicos. **Química Nova**, v. 22, n. 3, p. 329-334, 1999.

CARLOS, I. Z.; CARLI, C. B. A.; MAIA, D. C. G.; BENZATTI, F. P.; LOPES, F. C. M.; ROESE, F. M.; WATANABE, M.; MICHELETTI, A. C.; SANTOS, L. C. dos; VILEGAS, W.; HONDA, N. K. Immunostimulatory effects of the phenolic compounds from lichens on nitric oxide and hydrogen peroxide production. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 4, p. 847-852, 2009.

CASINI, A.; KELTER, G.; GABBIANI, C.; CINELLU, M. A.; MINGHETTI, G.; FREGONA, D.; FIEBIG, H. H.; MESSORI, L. Chemistry, antiproliferative properties, tumor selectivity, and molecular mechanisms of novel gold(III) compounds for cancer treatment: a systematic study. **Journal of Biological Inorganic Chemistry**, v. 14, n. 7, p. 1139-1149, 2009.

CASTELLI, S.; VASSALLO, O.; KATKAR, P.; CHE, C. M.; SUN, R. W. Y.; DESIDERI, A. Inhibition of human DNA topoisomerase IB by a cyclometalated gold III compound: analysis on the different steps of the enzyme catalytic cycle. **Biochemistry and Biophysics**, v. 516, n. 2, p. 108-112, 2011.

CASTILHO, T. M.; CAMARGO, L. M.; McMAHON-PRATT, D.; SHAW, J. J.; FLOETER-WINTER, L. M. A real-time polymerase chain reaction assay for the identification and quantification of American *Leishmania* species on the basis of glucose-6-phosphate dehydrogenase. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 78, n. 1, p. 122-132, 2008.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Laboratory Identification of Parasitic Diseases of Public Health Concern. **American trypanosomiasis**. Atlanta, 2016a. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/dpdx/trypanosomiasisamerican/index.html>>. Acesso em: 08 fev. 2017.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Laboratory Identification of Parasitic Diseases of Public Health Concern. **Leishmaniasis**. Atlanta, 2016b. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/dpdx/leishmaniasis/index.html>>. Acesso em: 08 fev. 2017.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Laboratory Identification of Parasitic Diseases of Public Health Concern. **Trypanosomiasis, African**. Atlanta, 2016c. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/dpdx/trypanosomiasisafrican/index.html>>. Acesso em: 08 fev. 2017.

CHAGAS, C. Nova tripanomíase humana. Estudos sobre morfologia e o ciclo evolutivo do *Trypanosoma Schizotrypanum cruzi*, n. gen., n. sp., agente etiológico de nova entidade mórbida do homem. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 1, p. 159-218, 1909.

CHAKRABORTY, A. K.; MAJUMDER, H. K. Mode of action of pentavalent antimonials: specific inhibition of type I DNA topoisomerase of *Leishmania donovani*. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 152, n. 2, p. 605-611, 1988.

CHAKRABORTY, A. K.; GUPTA, A.; MAJUMDER, H. K. A type 1 DNA topoisomerase from the kinetoplast hemoflagellate *Leishmania donovani*. **Indian Journal of Biochemistry and Biophysics**, v. 30, n. 5, p. 257-263, 1993.

CHAWLA, B.; MADHUBALA, R. Drug targets in *Leishmania*. **Journal of Parasitic Diseases**, v. 34, n. 1, p. 1-13, 2010.

CHAWLA, B.; JHINGRAN, A.; PANIGRAHI, A.; STUART, K.; MADHUBALA, R. Paromomycin affects translation and vesicle-mediated trafficking as revealed by proteomics of paromomycin -susceptible -resistant *Leishmania donovani*. **PLoS ONE**, v. 6, n. 10, 2011. doi:10.1371/journal.pone.0026660.

CHOWDHURY, S.; MUKHERJEE, T.; SENGUPTA, S.; CHOWDHURY, S. R.; MUKHOPADHYAY, S.; MAJUMDER, H. K. Novel betulin derivatives as antileishmanial agents with mode of action targeting type IB DNA topoisomerase. **Molecular Pharmacology**, v. 80, n. 4, p. 694-703, 2011.

COELHO, A. C.; TRINCONI, C. T.; SENRA, L.; YOKOYAMA-YASUNAKA, J. K. U.; ULIANA, S. R. B. *Leishmania* is not prone to develop resistance to tamoxifen. **International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance**, v. 5, n. 3, p. 77-83, 2015.

CONTRERAS, V. T.; MOREL, C. M.; GOLDENBERG, S. Stage specific gene expression precedes morphological changes during *Trypanosoma cruzi* metacyclogenesis. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 14, n. 1, p. 83-96, 1985.

COOK, J. G. H. Creatinine assay in the presence of protein. **Clinica Chimica Acta**, v. 32, n. 3, p. 485-486, 1971.

COPE, A. C.; FRIEDRICH, E. C. Electrophilic aromatic substitution reactions by platinum (II) and palladium (II) chlorides on N,N-dimethylbenzylamines. **Journal of the American Chemical Society**, v. 90, n. 4, p. 909-913, 1968.

COURA, J. R.; CASTRO, S. L. de. A critical review on Chagas disease chemotherapy. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 1, p. 3-24, 2002.

COX, F. E. G. History of sleeping sickness (African trypanosomiasis). **Infections Disease Clinics of North America**, v. 18, n. 2, p. 231-245, 2004.

CROFT, S. L.; OLLIARO, P. Leishmaniasis chemotherapy-challenges and opportunities. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 17, n. 10, p. 1478-1483, 2011.

CROFT, S. L.; SUNDAR, S.; FAIRLAMB, A. H. Drug resistance in leishmaniasis. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 19, n. 1, p. 111-126, 2006.

CROFT, S. L.; NEAL, R. A.; PENDERGAST, W.; CHAN, J. H. The activity of alkyl phosphorylcholines and related derivatives against *Leishmania donovani*. **Biochemical Pharmacology**, v. 36, n. 16, p. 2633-2636, 1987.

CROFT, S. L.; NEAL, R. A.; CRACIUNESCU, D. G.; CERTAD-FOMBONA, G. The activity of platinum, iridium and rhodium drug complexes against *Leishmania donovani*. **Tropical Medicine and Parasitology**, v. 43, n. 1, p. 24-28, 1992.

CUNNINGHAM, A. C. Parasitic adaptive mechanisms in infection by *Leishmania*. **Experimental and Molecular Pathology**, v. 72, n. 2, p. 132-141, 2002.

D'ANNESSA, I.; CASTELLI, S.; DESIDERI, A. Topoisomerase 1B as a target against leishmaniasis. **Mini Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 15, n. 3, p. 203-210, 2015.

DAS, B. B.; SEN, N.; GANGULY, A.; MAJUMDER, H. K. Reconstitution and functional characterization of the unusual bi-subunit type I DNA topoisomerase from *Leishmania donovani*. **FEBS Letters**, v. 565, n. 1/3, p. 81-88, 2004.

DAS, B. B.; SEN, N.; DASGUPTA, S. B.; GANGULY, A.; DAS, R.; MAJUMDER, H. K. Topoisomerase research of kinetoplastid parasite *Leishmania*, with special reference to development of therapeutics. **The Indian Journal of mMedical Research**, v. 123, n. 3, p. 221-232, 2006.

DAVIES, D. R.; MUSHTAQ, A.; INTERTHAL, H.; CHAMPOUX, J. J.; HOL, W. G. J. The structure of the transition state of the heterodimeric topoisomerase I of *Leishmania donovani* as a vanadate complex with nicked DNA. **Journal of Molecular Biology**, v. 357, n. 4, p. 1202-1210, 2006.

DEMAUREX, N.; DISTELHORST, C. Cell biology. Apoptosis: the calcium connection. **Science**, v. 300, n. 5616, p. 65-67, 2003.

DESJEUX, P. Leishmaniasis: public health aspects and control. **Clinics in Dermatology**, v. 14, n. 5, p. 417-423, 1996.

- DETERDING, A.; DUNGEY, F. A.; THOMPSON, K. A.; STEVERDING, D. Anti-trypanosomal activities of DNA topoisomerase inhibitors. **Acta Tropica**, v. 93, n. 3, p. 311-316, 2005.
- DOCAMPO, R.; HUANG, G. Calcium signaling in trypanosomatid parasites. **Cell Calcium**, v. 57, n. 3, p. 194-202, 2015.
- DOLAI, S.; ADAK, S. Endoplasmic reticulum stress responses in *Leishmania*. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 197, n. 1/2, p. 1-8, 2014.
- DOLAI, S.; PAL, S.; YADAV, R. K.; ADAK, S. Endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis in *Leishmania* through Ca<sup>2+</sup>-dependent and caspase-independent mechanism. **Journal of Biological Chemistry**, v. 286, n. 15, p. 13638-13646, 2011.
- DOUMAS, B. T.; KWOK-CHEUNG, P. P.; PERRY, B. W. Candidate reference method for determination of total bilirubin in serum: development and validation. **Clinical Chemistry**, v. 31, n. 11, p. 1779-1789, 1985.
- DUTTA, A.; BANDYOPADHYAY, S.; MANDAL, C.; CHATTERJEE, M. Development of a modified MTT assay for screening antimonial resistant field isolates of Indian visceral leishmaniasis. **Parasitology International**, v. 54, n. 2, p. 119-122, 2005.
- EL-SAYED, N. M.; MYLER, P. J.; BLANDIN, G.; BERRIMAN, M.; CRABTREE, J.; AGGARWAL, G.; CALER, E.; RENAULD, H.; WORTHEY, E. A.; HERTZ-FOWLER, C.; GHEDIN, E.; PEACOCK, C.; BARTHOLOMEU, D. C.; HAAS, B. J.; TRAN, A. N.; WORTMAN, J. R.; ALSMARK, U. C.; ANGIUOLI, S.; ANUPAMA, A.; BADGER, J.; BRINGAUD, F.; CADAG, E.; CARLTON, J. M.; CERQUEIRA, G. C.; CREAMY, T.; DELCHER, A. L.; DJIKENG, A.; EMBLEY, T. M.; HAUSER, C.; IVENS, A. C.; KUMMERFELD, S. K.; PEREIRA-LEAL, J. B.; NILSSON, D.; PETERSON, J.; SALZBERG, S. L.; SHALLOM, J.; SILVA, J. C.; SUNDARAM, J.; WESTENBERGER, S.; WHITE, O.; MELVILLE, S. E.; DONELSON, J. E.; ANDERSSON, B.; STUART, K. D.; HALL, N. Comparative genomics of trypanosomatid parasitic protozoa. **Science**, v. 309, n. 5733, p. 404-409, 2005.
- ELGAZWY, A. S. S. H.; ISMAIL, N. S. M.; ATTA-ALLAH, S. R.; SARG, M. T.; SOLIMAN, D. H. S.; ZAKI, M. Y.; ELGAMAS, M. A. Palladacycles as antimicrobial agents. **Current Medicinal Chemistry**, v. 19, n. 23, p. 3967-3981, 2012.
- FARRELL, N. P.; WILLIAMSON, J.; McLAREN, D. J. M. Trypanocidal and antitumour activity of platinum-metal and platinum-metal-drug dual-function complexes. **Biochemical Pharmacology**, v. 33, n. 7, p. 961-971, 1984.
- FERNANDES, J. F.; CASTELLANI, O. Growth characteristics and chemical composition of *Trypanosoma cruzi*. **Experimental Parasitology**, v. 18, n. 2, p. 195-202, 1966.
- FIDALGO, L. M.; GILLE, L. Mitochondria and trypanosomatids: targets and drugs. **Pharmaceutical Research**, v. 28, n. 11, p. 2758-2770, 2011.
- FLUIT, A. D. C.; VISSER, M. R.; SCHMITZ, F. Molecular detection of antimicrobial resistance. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 14, n. 4, p. 836-871, 2001.

FRANCO, L. P.; GÓIS, E. P. de; CODONHO, B. S.; PAVAN, A. L. R.; PEREIRA, I. de O.; MARQUES, M. J.; ALMEIDA, E. T. de. Palladium(II) imine ligands cyclometallated complexes with a potential leishmanicidal activity on *Leishmania (L.) amazonensis*. **Medicinal Chemistry Research**, v. 22, n. 3, p. 1049-1056, 2013.

FREITAS JUNIOR, L. H.; CHATELAIN, E.; KIM, H. A.; SIQUEIRA NETO, J. L. Visceral leishmaniasis treatment: what do we have, what do we need and how to deliver it? **International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance**, v. 2, p. 11-19, 2012.

FRICKER, S. P.; MOSI, R. M.; CAMERON, B. R.; BAIRD, I.; ZHU, Y.; ANASTASSOV, V.; COX, J.; DOYLE, P. S.; HANSELL, E.; LAU, G.; LANGILLE, J.; OLSEN, M.; QIN, L.; SKERLJ, R.; WONG, R. S.; SANTUCCI, Z.; McKERROW, J. H. Metal compounds for the treatment of parasitic diseases. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 102, n. 10, p. 1839-1845, 2008.

GANGNEUX, J. P.; SULAHIAN, A.; GARIN, Y. J. F.; DEROUIN, F. Lipid formulations of amphotericin B in the treatment of experimental visceral leishmaniasis due to *Leishmania infantum*. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 90, n. 5, p. 574-577, 1996.

GILL, J.; SPRENGER, H. R.; RALPH, E. D.; SHARPE, M. D. Hepatotoxicity possibly caused by amphotericin B. **Annals of Pharmacotherapy**, v. 33, n. 6, p. 683-685, 1999.

GODINHO, J. L. P.; SIMAS-RODRIGUES, C.; SILVA, R.; ÜRMENYI, T. P.; SOUZA, W. de; RODRIGUES, J. C. F. Efficacy of miltefosine treatment in *Leishmania amazonensis*-infected BALB/c mice. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 39, n. 4, p. 326-331, 2012.

GÖRG, A. **2-D electrophoresis: principles and methods**. Munich: GE Healthcare, 2004. 162 p.

GÖRG, A.; WEISS, W.; DUNN, M. J. Current two-dimensional electrophoresis technology for proteomics. **Proteomics**, v. 4, p. 3665-3685, 2004.

GOTO, H.; LINDOSO, J. A. L. Cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 26, n. 2, p. 293-307, 2012.

GROENENDYK, J.; LYNCH, J.; MICHALAK, M. Calreticulin, Ca<sup>2+</sup>, and calcineurin - signaling from the endoplasmic reticulum. **Molecules and Cells**, v. 17, n. 3, p. 383-389, 2004.

GROOT, M. J. de. Designing better drugs: predicting cytochrome P450 metabolism. **Drug Discovery Today**, v. 11, n. 13/14, p. 601-606, 2006.

GÜNZL, A. The pre-mRNA splicing machinery of trypanosomes: complex or simplified? **Eukaryotic Cell**, v. 9, n. 8, p. 1159-1170, 2010.

HARDER, S.; BENTE, M.; ISERMANN, K.; BRUCHHAUS, I. Expression of a mitochondrial peroxiredoxin prevents programmed cell death in *Leishmania donovani*. **Eukaryotic Cell**, v. 5, n. 5, p. 861-870, 2006.

HERNÁNDEZ, C.; ALVAREZ, C.; GONZÁLEZ, C.; AYALA, M. S.; LEÓN, C. M.; RAMÍREZ, J. D. Identification of six new world *Leishmania* species through the implementation of a High-Resolution Melting (HRM) genotyping assay. **Parasites and Vectors**, v. 7, n. 1, 2014. doi:10.1186/s1307-014-0501-y.

HERWALDT, B. L. Leishmaniasis. **Lancet**, v. 354, n. 9185, p. 1191-1199, 1999.

HORIKAWA, M. M.; PENA, M. S. Apoptose e mimetismo apoptótico em *Leishmania*: estratégias para uma infecção bem sucedida. **Revista da Biologia**, v. 6b, p. 32-37, 2011.

JACOBS, R. T.; NARE, B.; PHILLIPS, M. A. State of the art in African trypanosome drug discovery. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 11, n. 10, p. 1255-1274, 2011.

KATSUNO, K.; BURROWS, J. N.; DUNCAN, K.; VAN HUIJSDUIJNEN, R. H.; KANEKO, T.; KITA, K.; MOWBRAY, C. E.; SCHMATZ, D.; WARNER, P.; SLINGSBY, B. T. Hit and lead criteria in drug discovery for infectious diseases of the developing world. **Nature Reviews: Drug Discovery**, v. 14, p. 751-758, 2015.

KEIDING, R.; HÖRDER, M.; DENMARK, W. G.; PITKÄNEN, E.; TENHUNEN, R.; STRÖMME, J. H.; THEODORSEN, L.; WALDENSTRÖM, J.; TRYDING, N.; WESTLUND, L. Recommended methods for the determination of four enzymes in blood. **Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation**, v. 33, n. 4, p. 291-306, 1974.

KEIM, G. R.; SIBLEY, P. L.; YOON, Y. H.; KULESZA, J. S.; ZAIDI, I. H.; MILLER, M. M.; POUTSIAKA, J. W. Comparative toxicological studies of amphotericin B methyl ester and amphotericin B in mice, rats, and dogs. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 10, n. 4, p. 687-690, 1976.

KOWALTOWSKI, A. J. **Participação da mitocôndria na regulação da viabilidade celular**. 2004. 32 f. Tese (Livre Docencia) - Instituto de Química, Universidade de São Paulo, [São Paulo], 2004.

KOWALTOWSKI, A. J.; CASTILHO, R. F.; VERCESI, A. E. Mitochondrial permeability transition and oxidative stress. **FEBS Letters**, v. 495, n. 1/2, p. 12-15, 2001.

LARSEN, R. A.; BAUER, M.; THOMAS, A. M.; GRAYBILL, J. R. Amphotericin B and fluconazole, a potent combination therapy for cryptococcal meningitis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 48, n. 3, p. 985-991, 2004.

LI, A. P. Screening for human ADME/Tox drug properties in drug discovery. **Drug Discovery Today**, v. 6, n. 7, p. 357-366, 2001.

LI, X.; CHEN, L.; CHENG, F.; WU, Z.; BIAN, H.; XU, C.; LI, W.; LIU, G.; SHEN, X.; TANG, Y. In Silico prediction of chemical acute oral toxicity using multi-classification methods. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 54, n. 4, p. 1061-1069, 2014.

LIANG, X.; HARITAN, A.; ULIEL, S.; MICHAELI, S. *trans* and *cis* splicing in trypanosomatids: mechanism, factors, and regulation. **Eucaryotic Cell**, v. 2, n. 5, p. 830-840, 2003.



LIM, S.; CHANG, W.; LEE, B. K.; SONG, H.; HONG, J. H.; LEE, S.; SONG, B.W.; KIM, H. J.; CHA, M. J.; JANG, Y.; CHUNG, N.; CHOI, S.Y.; HWANG, K. C. Enhanced calreticulin expression promotes calcium-dependent apoptosis in postnatal cardiomyocytes. **Molecules and Cells**, v. 25, n. 3, p. 390-396, 2008.

LOPEZ, M.; CHERKASOV, A.; NANDAN, D. Molecular architecture of *Leishmania* EF-1a reveals a novel site that may modulate protein translation: a possible target for drug development. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 356, p. 886-892, 2007.

LUCCA NETO, V. A.; MAURO, A. E.; CAIRES, A. C. F.; ANANIAS, S. R.; ALMEIDA, E. T. de. Synthesis, characterization and thermal behavior of cyclopalladated compounds of the type  $[Pd\{C_6H_4CH_2N(CH_3)_2\}(\mu-X)]_2$  X=Cl, NCO, SCN, CN). **Polyhedron**, v. 18, p. 413-417, 1999.

MATSUO, A. L.; SILVA, L. S.; TORRECILHAS, A. C.; PASCOALINO, B. S.; RAMOS, T. C.; RODRIGUES, E. G.; SCHENKMAN, S.; CAIRES, A. C.; TRAVASSOS, L. R. In vitro and in vivo trypanocidal effects of the cyclopalladated compound 7a, a drug candidate for treatment of Chaga's disease. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 54, n. 8, p. 3318-3325, 2010.

MAYER, M.; KIES, U.; KAMMERMEIER, R.; BUCHNER, J. BiP and PDI cooperate in the oxidative folding of antibodies in vitro. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 275, n. 38, p. 29421-29425, 2000.

MELBY, P. C. Recent developments in leishmaniasis. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 15, n. 5, p. 485-490, 2002.

MELO, E. C. de; FORTALEZA, C. M. C. B. Challenges in the therapy of visceral leishmaniasis in Brazil: a public health perspective. **Journal of Tropical Medicine**, v. 2013, 2013. doi:10.1155/2013/319234

MORO, A. C.; MAURO, A. E.; GODOY NETTO, A. V.; ANANIAS, S. R.; QUILLES, M. B.; CARLOS, I. Z.; PAVAN, F. R.; LEITE, C. Q. F.; HÖRNER, M. Antitumor and antimycobacterial activities of cyclopalladated complexes: X-ray structure of  $[Pd(C_2,N-dmba)(Br)(tu)]$  (dmba=N,N-dimethylbenzylamine, tu=thiourea). **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 44, n. 11, p. 4611-4615, 2009.

MORO, A. C.; URBACZEK, A. C.; ALMEIDA, E. T. de; PAVAN, F. R.; LEITE, C. Q. F.; GODOY NETTO, A. V. Binuclear cyclopalladated compounds with antitubercular activity: synthesis and characterization of  $[Pd(C_2,N-dmba)(X)]_2(\mu-bpp)$  (X = Cl, Br, NCO, N<sub>3</sub>; bpp = 1,3-bis(4-pyridyl)propane). **Journal of Coordination Chemistry**, v. 65, n. 8, p. 1434-1442, 2012.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, v. 65, n. 1/2, p. 55-63, 1983.

MUELAS-SERRANO, S.; NOGAL-RUIZ, J. J.; GÓMEZ-BARRIO, A. Setting of a colorimetric method to determine the viability of *Trypanosoma cruzi* epimastigotes. **Parasitology Research**, v. 86, n. 12, p. 999-1002, 2000.

MUSKUS, C. E.; MARÍN VILLA, M.; VILLA, M. M. Metaciclologénesis: un proceso fundamental en la biología de *Leishmania*. **Biomédica**, v. 22, n. 2, p. 167-177, 2002.

NAVARRO, M.; BETANCOURT, A.; HERNANDEZ, C.; MARCHAN, E. Palladium polypyridyl complexes: synthesis, characterization, DNA interaction and biological activity on *Leishmania (L.) mexicana*. **Journal of Brazilian Chemistry Society**, v. 19, p. 1355-1360, 2008.

NAVARRO, M.; GABBIANI, C.; MESSORI, L.; GAMBINO, D. Metal-based drugs for malaria, trypanosomiasis and leishmaniasis: recent achievements and perspectives. **Drug Discovery Today**, v. 15, n. 23/24, p. 1071-1078, 2010.

NEVES, A. P.; VARGAS, M. D. Platinum(II) complexes in cancer therapy. **Revista Virtual de Química**, v. 3, n. 3, p. 196-209, 2011.

NEVES, A. P.; PEREIRA, M. X. G.; PETERSON, E. J.; KIPPING, R.; VARGAS, M. D.; SILVA JUNIOR, F. P.; CARNEIRO, J. W. M.; FARRELL, N. P. Exploring the DNA binding/cleavage, cellular accumulation and topoisomerase inhibition of 2-hydroxy-3-(aminomethyl)-1,4-naphthoquinone mannich bases and their platinum(II) complexes. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 119, p. 54-64, 2013.

NICOLAS, L.; PRINA, E.; LANG, T. Real-time PCR for detection and quantitation of *Leishmania* in mouse tissues. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 40, n. 5, p. 1666-1669, 2002.

NOK, A. J. Arsenicals (melarsoprol), pentamidine and suramin in the treatment of human African trypanosomiasis. **Parasitology Research**, v. 90, n. 1, p. 71-79, 2003.

ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD. Leishmaniasis. **Informe Leishmaniasis**, n. 4, 2016. Disponível em: <<http://docplayer.com.br/38790647-Leishmanioses-informe-epidemiologico-das-americas.html>>. Acesso em: 30 mar. 2017

OTERO, L.; VIEITES, M.; BOIANI, L.; DENICOLA, A.; RIGOL, C.; OPAZO, L.; OLEAZAR, C.; MAYA, J. D.; MORELLO, A.; KRAUTH-SIEGEL, R. L.; PIRO, O. E.; CASTELLANO, E.; GONZÁLEZ, M.; GAMBINO, D.; CERECETTO, H. Novel antitrypanosomal agents based on palladium nitrofurylthiosemicarbazone complexes: DNA and redox metabolism as potential therapeutic targets. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 49, n. 11, p. 3322-3331, 2006.

PAIVA, F. P. de; MAFFILI, V. V.; SANTOS, A. C. S. **Curso de manipulação de animais de laboratório**. Salvador: Fiocruz, Centro de Pesquisas Gonçalo Muniz, 2005. Disponível em: <[www.cpqgm.fiocruz.br/arquivos/bioterio/bioterio\\_apostilha.pdf](http://www.cpqgm.fiocruz.br/arquivos/bioterio/bioterio_apostilha.pdf)>. Acesso em: 8 nov. 2005.

PALADI, C. S.; PIMENTEL, I. A. S.; KATZ, S.; CUNHA, R. L. O. R.; JUDICE, W.; A. de S.; CAIRES, A. C. F.; BARBIÉRI, C. L. In vitro and In vivo activity of a pallacycle complexo on *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. **PLoS: Neglected Tropical Diseases**, v. 6, n. 5, 2012. doi:10.1371/journal.pndt0001626.

PALMER, A. C.; KISHONY, R. Opposing effects of target overexpression reveal drug mechanisms. **Nature Communications**, v. 5, p. 19-21, 2014.

PALUMBO, E. Current treatment for cutaneous leishmaniasis: a review. **American Journal of Therapeutics**, v. 16, n. 2, p. 178-182, 2009.

PASSALACQUA, T. G.; DUTRA, L.; ALMEIDA, L. de; VELÁSQUEZ, A. M. A.; TORRES, F. A. E.; YAMASAKI, P. R.; SANTOS, M. B. dos; REGASINI, L. O.; MICHELS, P. A. M.; BOLZANI, V. da S.; GRAMINHA, M. A. S. Synthesis and evaluation of novel prenylated chalcone derivatives as anti-leishmanial and anti-trypanosomal compounds. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 25, n. 16, p. 3342-3345, 2015.

PASSERINI, G. **Avaliação do potencial tripanocida de substâncias extraídas da família Piperaceae em formas epimostigotas de *Trypanosoma cruzi***. 2008. 119 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2008.

PEARSON, R. G. Hard and soft acids and bases. **Journal of the American Chemical Society**, v. 85, n. 22, p. 3533-3539, 1963.

PEREIRA, A.; PEREZ, M. Tripanosomosis: enfermedad de Chagas y enfermedad del sueño. **Parasitología**, v. 22, n. 2, p. 104-111, 2003.

PERRY, B. W.; DOUMAS, B. T.; BAYSE, D. D.; BUTLER, T.; COHEN, A.; FELLOWS, W.; GARBER, C. C.; HOWELL, B.; KOCH, T.; KRISHNAMURTHY, S.; LOUDERBACK, A.; McCOMB, R. B.; MILLER, D.; MILLER, R. R.; RAND, R. N.; SCHAFFER, R. A candidate reference method for determination of bilirubin in serum. Test for transferability. **Clinical Chemistry**, v. 29, n. 2, p. 297-301, 1983.

PIRES, D. E. V; BLUNDELL, T. L.; ASCHER, D. B. pkCSM: predicting small-molecule pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 58, n. 9, p. 4066-4072, 2015.

PRADA, C. F.; ÁLVAREZ-VELILLA, R.; BALAÑA-FOUCE, R.; PRIETO, C.; CALVO-ÁLVAREZ, E.; ESCUDERO-MARTÍNEZ, J. M.; REQUENA, J. M.; ORDÓÑEZ, C.; DESIDERI, A.; PÉREZ-PERTEJO, Y.; REGUERA, R. M. Gimatecan and other camptothecin derivatives poison *Leishmania* DNA-topoisomerase IB leading to a strong leishmanicidal effect. **Biochemical Pharmacology**, v. 85, n. 10, p. 1433-1440, 2013.

PRINA, E.; ROUX, E.; MATTEI, D.; MILON, G. *Leishmania* DNA is rapidly degraded following parasite death: an analysis by microscopy and real-time PCR. **Microbes and Infection**, v. 9, n. 11, p. 1307-1315, 2007.

RIOU, G. F.; GABILLOT, M.; DOUC-RASY, S.; KAYSER, A.; BARROIS, M. A type I DNA topoisomerase from *Trypanosoma cruzi*. **European Journal of Biochemistry**, v. 134, n. 3, p. 479-485, 1983.

ROBERTS, C. W.; McLEOD, R.; RICE, D. W.; GINGER, M.; CHANCE, M. L.; GOAD, L. J. Fatty acid and sterol metabolism: potential antimicrobial targets in apicomplexan and trypanosomatid parasitic protozoa. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 126, n. 2, p. 129-142, 2003.

ROBERTS, W. L.; BERMAN, J. D.; RAINEY, P. M. In vitro antileishmanial properties of tri- and pentavalent antimonial preparations. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 39, n. 6, p. 1234-1239, 1995.

ROBLEDO, S.; WOZENCRAFT, A.; VALENCIA, A. Z.; SARAVIA, N. Human monocyte infection by *Leishmania (Viannia) panamensis*. Role of complement receptors and correlation of susceptibility in vitro with clinical phenotype. **Journal of immunology**, v. 152, n. 3, p. 1265-1276, 1994.

ROCHA, M. C. D.; SANTANA, A. M.; ANANIAS, S. R.; ALMEIDA, E. T.; MAURO, A. E.; PLACERES, M. C. P.; CARLOS, I. Z. Citotoxicity and immune response induced by organopalladium(II) compounds in mice bearing Ehrlich ascites tumour. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 18, n. 8, p. 1473-1480, 2007.

ROGERS, K. A.; DEKREY, G. K.; MBOW, M. L.; GILLESPIE, R. D.; BRODSKYN, C. I.; TITUS, R. G. Type 1 and type 2 responses to *Leishmania major*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 209, n. 1, p. 1-7, 2002.

SÁNCHEZ-DELGADO, R. A.; ANZELLOTTI, A. Metal complexes as chemotherapeutic agents against tropical diseases: trypanosomiasis, malaria and leishmaniasis. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 4, p. 23-30, 2004.

SANTOS, D.; PARAJÓN-COSTA, B.; ROSSI, M.; CARUSO, F.; BENÍTEZ, D.; VARELA, J.; CERECETTO, H.; GONZÁLEZ, M.; GÓMEZ, N.; CAPUTTO, M. E.; MOGLIONI, A. G.; MOLTRASIO, G. Y.; FINKIELSZTEIN, L. M.; GAMBINO, D. Activity on *Trypanosoma cruzi*, erythrocytes lysis and biologically relevant physicochemical properties of Pd(II) and Pt(II) complexes of thiosemicarbazones derived from 1-indanones. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 117, p. 270-276, 2012.

SANTOS, A. M. dos; NORONHA, E. F.; FERREIRA, L. A. M.; CARRANZA-TAMAYO, C.O.; CUPOLILLO, E.; ROMERO, G. A. S. Efeito de uma formulação hidrofílica de paromomicina tópica na leishmaniose cutânea em pacientes com contra-indicações de tratamento com antimonial pentavalente. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, n. 5, p. 444-448, 2008.

SARDAR, A. H.; KUMAR, S.; KUMAR, A.; PURKAIT, B.; DAS, S.; SEN, A.; KUMAR, M.; SINHA, K. K.; SINGH, D.; EQUBAL, A.; ALI, V.; DAS, P. Proteome changes associated with *Leishmania donovani* promastigote adaptation to oxidative and nitrosative stresses. **Journal of Proteomics**, v. 81, p. 185-199, 2013.

SCORRANO, L.; OAKES, S. A.; OPFERMAN, J. T.; CHENG, E. H.; SORCINELLI, M. D.; POZZAN, T.; KORSEYER, S. J. BAX and BAK regulation of endoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup>: A control point for apoptosis. **Science**, v. 300, n. 5616, p. 135-139, 2003.

SCOTT, J. A. G.; DAVIDSON, R. N.; MOODY, A. H.; GRANT, H. R.; FELMINGHAM, D.; SCOTT, G. M. S.; OLLIARO, P.; BRYCESON, A. D. M. Aminosidine (paromomycin) in the treatment of leishmaniasis imported into the United Kingdom. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 86, n. 6, p. 617-619, 1992.

SEN, N.; DAS, B. B.; GANGULY, A.; MUKHERJEE, T.; BANDYOPADHYAY, S.; MAUJUMDER, H. K. Camptothecin-induced imbalance in intracellular cation homeostasis regulates programmed cell death in unicellular hemoflagellate *Leishmania donovani*. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 279, n. 50, p. 52366-52375, 2004a.

SEN, N.; DAS, B. B.; GANGULY, A.; MUKHERJEE, T.; TRIPATHI, G.; BANDYOPADHYAY, S.; RAKSHIT, S.; SEN, T.; MAJUMDER, H. K. Camptothecin induced mitochondrial dysfunction leading to programmed cell death in unicellular hemoflagellate *Leishmania donovani*. **Cell death and Differentiation**, v. 11, n. 8, p. 924-936, 2004b.

SENGUPTA, S.; GANGULY, A.; ROY, A.; BOSEDASGUPTA, S.; D'ANNESSA, I.; DESIDERI, A.; MAJUMDER, H. K. ATP independent type IB topoisomerase of *Leishmania donovani* is stimulated by ATP: an insight into the functional mechanism. **Nucleic Acids Research**, v. 39, n. 8, p. 3295-3309, 2011.

SERRANO, F. A.; MATSUO, A. L.; MONTEFORTE, P. T.; BECHARA, A.; SMAILI, S. S.; SANTANA, D. P.; RODRIGUES, T.; PEREIRA, F. V.; SILVA, L. S.; MACHADO, J.; SANTOS, E. L.; PESQUERO, J. B.; MARTINS, R. M.; TRAVASSOS, L. R.; CAIRES, A. C. F.; RODRIGUES, E. G. A cyclopalladated complex interacts with mitochondrial membrane thiol-groups and induces the apoptotic intrinsic pathway in murine and cisplatin-resistant human tumor cells. **BMC Cancer**, v. 11, n. 296, 2011. doi:10.1186/1471-2407-11-296.4.

SERRANO-MARTÍN, X.; PAYARES, G.; LUCCA, M. de; MARTINEZ, J. C.; MENDOZA-LEÓN, A.; BENAİM, G. Amiodarone and miltefosine act synergistically against *Leishmania mexicana* and can induce parasitological cure in a murine model of cutaneous leishmaniasis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 53, n. 12, p. 5108-5113, 2009.

SHAHA, C. Apoptosis in *Leishmania* species & its relevance to disease pathogenesis. **Indian Journal of Medical Research**, v. 123, n. 3, p. 233-244, 2006.

SHARMA, V.; PIWNICA-WORMS, D. Metal complexes for therapy and diagnosis of drug resistance. **Chemical Reviews**, v. 99, n. 9, p. 2545-2560, 1999.

SILVEIRA, F. T.; LAINSON, R.; CORBETT, C. E. P. Clinical and immunopathological spectrum of American cutaneous leishmaniasis with special reference to the disease in Amazonian Brazil: a review. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 99, n. 3, p. 239-251, 2004.

SINGH, A. K.; PANDEY, R. K.; SIQUEIRA NETO, J. L.; KWON, Y. J.; FREITAS JUNIOR, L. H.; SHAHA, C.; MADHUBALA, R. Proteomic-based approach to gain insight into reprogramming of THP-1 cells exposed to *Leishmania donovani* over an early temporal window. **Infection and Immunity**, v. 83, n. 5, p. 1853-1868, 2015.

SOUZA, R. A. de. **Compostos de Pd(II) contendo ligantes piridínicos**: potencialidades biológicas e aspectos estruturais. 2013. 152 f. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2013.

STAUBER, L. A. Host resistance to the khartoum strain of *Leishmania donovani*. **The Rice Institute Pamphlet**, v. 45, p. 80-96, 1956.

STEVANATO, A.; MAURO, A. E.; GODOY NETTO, A. V. Thermal and spectroscopic investigation on N,N-dimethylbenzylamine based cyclopalladated compounds containing isonicotinamide. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 97, n. 1, p. 149-152, 2009.

STICH, A.; ABEL, P. M.; KRISHMA, S. Human African trypanosomiasis. **BMJ**, v. 325, n. 7357, p. 203-206, 2002.

SÜLSEN, V. P.; FRANK, F. M.; CAZORLA, S. I.; ANESINI, C. A.; MALCHIODI, E. L.; FREIXA, B.; VILA, R.; MUSCHIETTI, L. V.; MARTINO, V. S. Trypanocidal and leishmanicidal activities of sesquiterpene lactones from *Ambrosia tenuifolia* Sprengel (*Asteraceae*). **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 52, n. 7, p. 2415-2419, 2008.

SUNDAR, S.; OLLIARO, P. L. Miltefosine in the treatment of leishmaniasis: clinical evidence for informed clinical risk management. **Therapeutics and Clinical Risk Management**, v. 3, n. 5, p. 733-740, 2007.

TAGLIARINO, C. Calcium is a key signaling molecule in beta -lapachone-mediated cell death. **Journal of Biological Chemistry**, v. 276, n. 22, p. 19150-19159, 2001.

TITUS, R. G.; MARCHAND, M.; BOON, T.; LOUIS, J. A. A limiting dilution assay for quantifying *Leishmania major* in tissues of infected mice. **Parasite Immunology**, v. 7, n. 5, p. 545-555, 1985.

TOPOISOMERASE inhibitor.JPG. In: WIKIMEDIA Commons. Disponível em: <[https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Topoisomerase\\_Inhibitor.JPG](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Topoisomerase_Inhibitor.JPG)>. Acesso em: 22 mar. 2017.

TORCHILIN, V. P. Recent advances with liposomes as pharmaceutical carriers. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 4, n. 2, p. 145-160, 2005.

TORRES, D. C.; ALVES, M. R.; ROMERO, G. A. S.; DÁVILA, A. M. R.; CUPOLILLO, E. Assessment of drug resistance related genes as candidate markers for treatment outcome prediction of cutaneous leishmaniasis in Brazil. **Acta Tropica**, v. 126, n. 2, p. 132-141, 2013.

TROUILLER, P.; OLLIARO, P.; TORREELE, E.; ORBINSKI, J.; LAING, R.; FORD, N. Drug development for neglected diseases: a deficient market and a public-health policy failure. **Lancet**, v. 359, n. 9324, p. 2188-2194, 2002.

TU, B. P.; WEISSMAN, J. S. Oxidative protein folding in eukaryotes: mechanisms and consequences. **Journal of Cell Biology**, v. 164, n. 3, p. 341-346, 2004.

VELÁSQUEZ, A. M. A.; FRANCISCO, A. I.; KOHATSU, A. A. N.; SILVA, F. A. de J.; RODRIGUES, D. F.; TEIXEIRA, R. G. da S.; CHIARI, B. G.; ALMEIDA, M. G. J. de; ISAAC, V. L. B.; VARGAS, M. D.; CICARELLI, R. M. B. Synthesis and tripanocidal activity of ferrocenyl and benzyl diamines against *Trypanosoma brucei* and *Trypanosoma cruzi*. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 24, n. 7, p. 1707-1710, 2014.

VELÁSQUEZ, A. M. A.; SOUZA, R. A. de; PASSALACQUA, T. G.; RIBEIRO, A. E. R.; SCONTRI, M.; CHIN, C. M.; ALMEIDA, L. de; CISTIA, M. L. del; ROSA, J. A. da; MAURO, A. E.; GRAMINHA, M. A. S. Antiprotozoal activity of the cyclopalladated complexes against *Leishmania amazonensis* and *Trypanosoma cruzi*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 27, n. 6, p. 1032-1039, 2016.

VIEIRA, G. A. L. **Análise proteômica diferencial de *Trypanosoma cruzi* na presença de substâncias extraídas de plantas da família Piperaceae**. 2011. 89 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2011.

WALKER, J.; SARAVIA, N. G. Inhibition of *Leishmania donovani* promastigote DNA topoisomerase I and human monocyte DNA topoisomerases I and II by antimonial drugs and classical antitopoisomerase agents. **The Journal of Parasitology**, v. 90, n. 5, p. 1155-1162, 2004.

WASS, J. A. Origin 7.0. **Biotech Software and Internet Report**, v. 3, n. 5/6, p. 130-133, 2004.

WERNECK, G. L. Geographic spread of visceral leishmaniasis in Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 26, n. 4, p. 644-645, 2010.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Leishmaniasis**. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/en/>>. Acesso em: 30 jan. 2017a.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Chagas disease (American trypanosomiasis)**. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/en/>>. Acesso em: 30 jan. 2017b.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Human African trypanosomiasis**. Disponível em: <[http://www.who.int/trypanosomiasis\\_african/en/](http://www.who.int/trypanosomiasis_african/en/)>. Acesso em: 30 jan. 2017c.

WRIGHT, S. D.; SILVERSTEIN, S. C. Receptors for C3b and C3bi promote phagocytosis but not the release of toxic oxygen from human phagocytes. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 158, n. 6, p. 2016-2023, 1983.

WRÓBLEWSKI, F.; LADUE, J. S. Serum glutamic pyruvic transaminase in cardiac and hepatic disease. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 91, p. 569-571, 1956.

WU, X.; YALOWICH, J. C.; HASINOFF, B. B. Cadmium is a catalytic inhibitor of DNA topoisomerase II. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 105, n. 6, p. 833-838, 2011.

YARDLEY, V.; CROFT, S. L. Activity of liposomal amphotericin B against experimental cutaneous leishmaniasis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 41, n. 4, p. 752-756, 1997.

ZINSSTAG, J.; BRUN, R.; CRACIUNESCU, D. G.; PARRONDO IGLESIAS, E. In vitro activity of organometallic complexes of iridium, platinum and rhodium on *Trypanosoma b. gambiense*, *T. b. rhodesiense* and *T. b. brucei*. **Tropical Medicine and Parasitology**, v. 42, n. 1, p. 41-44, 1991.