

## Evaluación de endoperóxidos frente a *Leishmania* spp.: Avances y perspectivas

Endoperoxides evaluation against *Leishmania* spp.: Advances and perspectives

Laura Machín Galarza<sup>1\*</sup> <https://orcid.org/0000-0002-0708-6789>

Lars Gille<sup>2</sup> <https://orcid.org/0000-0003-1223-0201>

Lianet Monzote Fidalgo<sup>3</sup> <https://orcid.org/0000-0002-1958-809X>

<sup>1</sup>Universidad de la Habana, Instituto de Farmacia y Alimentos. La Habana, Cuba.

<sup>2</sup>Universidad de Medicina Veterinaria de Viena, Instituto de Farmacología y Toxicología. Viena, Austria.

<sup>3</sup>Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí. La Habana, Cuba.

\*Autor para la correspondencia: [lauramachinlaura@gmail.com](mailto:lauramachinlaura@gmail.com)

### RESUMEN

**Introducción:** Los endoperóxidos son moléculas que presentan un enlace O-O entre dos átomos de carbono de un anillo cíclico. Aunque se conocen varios ejemplos de estas moléculas, solo se identificaron revisiones de actividad antileishmanial para la artemisina y sus derivados, donde no se consideran los aportes experimentales recientes.

**Objetivo:** Identificar evidencias recientes de acción antileishmanial de endoperóxidos de diferentes fuentes.

**Métodos:** Se realizó una revisión de artículos publicados en 10 años (2013-2022), en español e inglés, principalmente en la base de datos PubMed/Medline y utilizando Google Scholar.

**Resultados:** Tras revisar 44 artículos originales se identificaron 31 endoperóxidos activos sobre *Leishmania*, de los cuales 11 fueron 1,2,4-trioxanos, 12, 1,2-dioxanos, seis derivados de 2-adamanto, además de dos tetraoxanos. Además de la

artemisinina y sus derivados, se destacan como compuestos promisorios el ascaridol, por su capacidad de controlar el desarrollo de lesiones cutáneas murinas, y dos tetraoxanos que disminuyeron significativamente la carga parasitaria en hígado y bazo de ratones infectados.

**Conclusiones:** Las potencialidades farmacológicas de los endoperóxidos frente a *Leishmania* spp. se ha demostrado en estudios de diferentes grupos de investigación. Los trabajos publicados se han desarrollado fundamentalmente *in vitro* y en especies de Asia, África y el sur de Europa. Se proponen posibles dianas moleculares mitocondriales, sin descartar la contribución de las membranas, citoplasma y kinetoplasto del parásito al mecanismo de acción. La información reunida puede facilitar el reposicionamiento de las artemisininas y/o la selección de otros endoperóxidos como punto de partida para el desarrollo de una nueva opción terapéutica.

**Palabras clave:** endoperóxido; *Leishmania*; artemisinina; dioxano; tetraoxano.

## ABSTRACT

**Introduction:** Endoperoxides are molecules distinguished by the presence of an O-O bond between two carbon atoms of a cyclic ring. Although several examples of natural and synthetic origin exist, available reviews only focus on studies about the antileishmanial activity of artemisinin and its derivatives, where recent experimental contributions were not considered.

**Objective:** To identify recent evidences of antileishmanial actions of endoperoxides from different sources.

**Methods:** A review of articles published in ten years (2013-2022), in Spanish and English, mainly in the PubMed/Medline database and using the Google Scholar search engine was developed.

**Results:** After reviewed 44 original articles, 31 endoperoxides active on *Leishmania* were identified; from which, 11 were 1,2,4-trioxanes, 12 were 1,2-dioxanes, 6 were 2-admantyl derivatives, besides 2 tetraoxanes. Besides artemisinin and its derivatives, among promissory compounds ascaridole is highlighted, due to its capacity to reduce the parasite burden in murine cutaneous lesions, as well as two

tetraoxanes that significantly reduced the parasite burden in liver and spleen of infected mice.

**Conclusions:** The pharmacological potential of endoperoxides against *Leishmania* spp. has been demonstrated in studies by different research groups. The published works have been developed mainly *in vitro* and in species from Asia, Africa and southern Europe. Possible mitochondrial molecular targets are proposed, without ruling out the contribution of the parasite's membranes, cytoplasm and kinetoplast to the mechanism of action. The information gathered may facilitate the repositioning of artemisinins and/or the selection of other endoperoxides as a starting point for the development of a new therapeutic option.

**Keywords:** endoperoxide; *Leishmania*; artemisinin; dioxane; tetraoxane

Recibido: 08/02/2023

Aceptado: 14/06/2023

## Introducción

El término leishmaniasis incluye a un grupo de enfermedades tropicales causadas por protozoos del género *Leishmania*. Según la especie involucrada, la región geográfica y la inmunidad del hospedero se pueden manifestar afectaciones cutáneas, mucocutáneas y/o viscerales.<sup>(1)</sup> Actualmente, es reconocida por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como un serio problema de salud mundial, endémico en más de 90 países y con cientos de millones de personas en riesgo de contraer la infección.<sup>(2)</sup>

Al tratarse de una enfermedad antroponóptica y transmitida por vectores, sin vacunas disponibles para la prevención, las medidas de control se han dirigido fundamentalmente al uso de insecticidas y a la quimioterapia.<sup>(3)</sup> Sin embargo, ninguno de los fármacos aprobados para el tratamiento antileishmanial induce una curación parasitológica; lo cual, unido a las complicadas administraciones, elevada toxicidad, excesivos costos, desarrollo de resistencia y efectos secundarios graves,<sup>(4)</sup> demanda el estudio de nuevas alternativas farmacológicas.

A partir de los beneficios observados en *Plasmodium*<sup>(5)</sup> no se descarta la posibilidad de que la familia de la artemisina (ART) y, en general, los endoperóxidos (EP) puedan funcionar frente a *Leishmania*.<sup>(6)</sup> Los EP son moléculas que se distinguen por presentar un enlace O-O interno entre dos átomos de carbono de un anillo cíclico. La ruptura del enlace peroxídico produce la formación de radicales centrados en el oxígeno, a partir de los cuales se generan radicales más estables centrados en el carbono.<sup>(7)</sup>

Fisiológicamente, las ciclooxygenasas participan en la síntesis de EP endógenos en células mamíferas.<sup>(8)</sup> Durante este proceso, por la acción de prostaglandinas sintasas, los intermediarios generados son modificados a moléculas sin grupo funcional EP.<sup>(9)</sup> La alta especificidad de estas reacciones sugiere que EP exógenos, sin relación estructural con EP endógenos, deban ser difíciles de degradar por células mamíferas y de *Leishmania*. En este sentido, se han identificado varios ejemplos provenientes de diferentes fuentes como plantas, hongos e invertebrados marinos.<sup>(10)</sup> Teniendo en cuenta que estos compuestos se producen como parte de la defensa frente a especies patógenas, no es de extrañar que (más allá de la ART) puedan ser utilizados con fines terapéuticos.

Tras una búsqueda de revisiones relacionadas, en el período 2013-2022, se identificó una revisión previa de la actividad de la ART y sus derivados frente a parásitos protozoarios *in vitro* e *in vivo*, incluyendo *Leishmania* spp.<sup>(6)</sup> Recientemente, se realizó un análisis comparativo del potencial antiprotozoario de compuestos EP policíclicos de origen natural, para lo cual se empleó la herramienta web PASS (*Prediction of Activity Spectra of Substances*), donde se resaltó la actividad selectiva (92 %) de la ART frente a *Leishmania*. Las estimaciones realizadas no se contrastaron con estudios experimentales reportados.<sup>(11)</sup>

Además de contribuir en la mejora de los fármacos antileishmaniales disponibles, la síntesis química se resalta como una fuente importante de nuevas entidades moleculares. Con respecto a EP obtenidos por esta vía, revisiones recientes se enfocan principalmente en los fundamentos químicos de su obtención<sup>(12)</sup> y en sus potencialidades como antimaláricos.<sup>(5,13)</sup> No se encontraron publicaciones actualizadas que revisen los trabajos donde se evalúe la actividad antileishmaniales de EP sintéticos.

Resulta interesante profundizar en los estudios de actividad antileishmanial de los EP, sobre todo porque la mayor parte de las revisiones precedentes se enfocan en evaluaciones *in vitro*, sobre la forma extracelular (promastigotes) y en algunas especies del parásito. Por tanto, la presente revisión se propone identificar las evidencias experimentales más recientes de acción antileishmanial de EP de origen natural y sintético.

## Métodos

Se realizó una búsqueda de artículos publicados en el período de enero de 2013 a diciembre de 2022, para lo cual se consideraron los términos: "*Leishmania*", "*Trypanosoma*", "endoperóxido", "artemisina", "artesanato", "arteméter", "dihidroartemisina", "dioxano", "trioxano", "trioxolano", "tetraoxano", y sus equivalentes en inglés. Todas las búsquedas se realizaron empleando parejas de términos, conformadas por uno de los dos primeros y uno de los nueve siguientes. La exploración se realizó fundamentalmente en la base de datos PubMed/Medline, además de utilizarse el motor de búsqueda Google Académico.

De las 92 publicaciones inicialmente identificadas se seleccionaron 44 artículos originales y 15 revisiones, donde el 78 % corresponden a los últimos cinco años. Por no corresponderse con los criterios de búsqueda, se excluyeron 33 trabajos, donde se encontraban artículos de revisión y otros enfocados en evaluaciones anti-*Plasmodium*. A partir de la exploración manual de las referencias de las publicaciones seleccionadas se identificaron 25 trabajos adicionales, 6 de los cuales correspondían a artículos originales en parásitos de *Leishmania*. Aunque 15 de estos 25 trabajos no pertenecían al período analizado, todos fueron incluidos por su relevancia en el tema abordado, para un total de 84 publicaciones. A partir de los 44 artículos originales inicialmente seleccionados, se identificaron 31 endoperóxidos activos frente a *Leishmania*, cuya representación química se realizó en el software BIOVIA Draw versión 18.1.

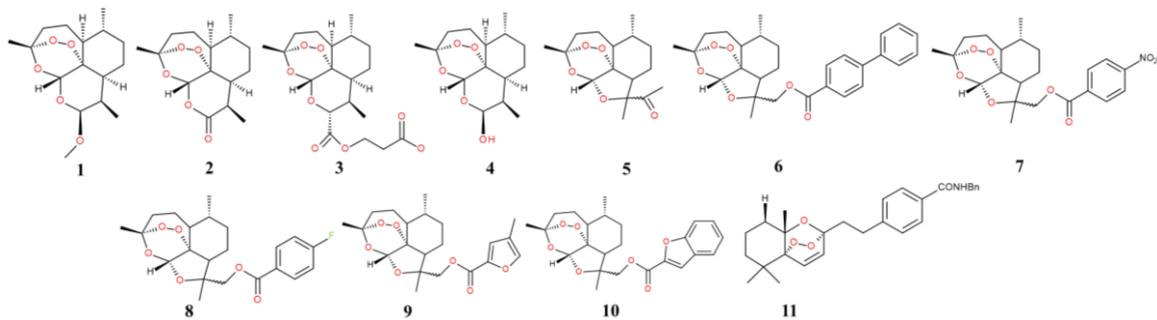
## Artemisina y derivados (1,2,4-trioxanos) sintéticos

El principal EP que se resalta en la literatura por sus potencialidades antiparasitarias es la ART (fig. 1), aislada por primera vez a partir de la especie vegetal *Artemisina annua* L. en 1971. Esta lactona sesquiterpénica con esqueleto estructural tetracíclico clasifica como un 1,2,4-trioxano.<sup>(5,6)</sup> Actualmente, se encuentra aprobada en la clínica para el tratamiento de la malaria, cuya acción se basa en la ruptura del puente O-O por el grupo hemo liberado de la hemoglobina plasmática en los eritrocitos. Esto produce radicales libres e intermediarios alquilados que atacan proteínas asociadas a la supervivencia de parásitos maláricos.<sup>(14)</sup> La ART constituye la molécula líder de una familia de fármacos semisintéticos similares, donde se destacan el arteméter (ATM), el artesunato (ATS) y la dihidroartemisina (DHA) (fig. 1).

Las características que comparten los parásitos de *Plasmodium* y *Leishmania*<sup>(15,16)</sup> justifican los estudios donde se demuestra el amplio espectro antileishmanial *in vitro* de la ART y sus derivados (tabla 1). Adicionalmente, se han descrito otros derivados sintéticos, en cuya estructura presentan un anillo furano de cinco miembros (fig. 1); en lugar del anillo característico de tetrahidropirano de seis miembros presente en los derivados de ART convencionales. Estos 1,2,4-trioxanos noveles han demostrado ser activos (tabla 1) y selectivos frente a promastigotes de *L. infantum* y *L. donovani*.<sup>(17)</sup> La actividad antileishmanial de diferentes 1,2,4-trioxanos de menor complejidad estructural también fue evaluada, destacándose el análogo 11 por su mayor selectividad frente a promastigotes de *L. donovani*.<sup>(18)</sup> Los primeros estudios enfocados en la acción inhibitoria de la ART frente a parásitos de *Leishmania* plantearon que la muerte celular programada tras el tratamiento de promastigotes de *L. donovani* se debía a la formación de radicales centrados en el carbono, seguido de la aparición de especies reactivas de oxígeno (ERO), la reducción de tioles no proteicos y la movilización del  $\text{Ca}^{2+}$ .<sup>(19)</sup> Estos eventos se asociaron a la pérdida del potencial de membrana mitocondrial, degradación del ADN y detención del ciclo celular.<sup>(20)</sup>

En correspondencia con estos hallazgos, la producción de ERO en promastigotes tratados se acompañó de cierta disfunción mitocondrial, con despolarización de la membrana y disminución de los niveles de ATP.<sup>(21)</sup> En particular, se demostró la

capacidad de la ART de restaurar los niveles de óxido nítrico en macrófagos, donde la infección por *Leishmania* causó una expresión disminuida del ARNm correspondiente a la enzima óxido nítrico sintasa.<sup>(22)</sup> En el caso de la DHA, su acción sobre amastigotes de *L. braziliensis* se asoció a la inducción de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y a la pérdida del control respiratorio.<sup>(23)</sup>



Nota: Los endoperóxidos representados corresponden a: **1**: artemisina; **2**: arteméter; **3**: artesunato; **4**: dihidroartemisina; **5**: 1-[(5R,11R,12R)-1,5,9-trimetil-10,13,14,15-tetraoxatetraciclo[9.3.1.04,12.08,12]pentadecan-9-il]etanona; **6**: [(5R,11R,12R)-1,5,9-trimetil-10,13,14,15-tetraoxatetraciclo[9.3.1.04,12.08,12]pentadecan-9-il]metil 4-fenilbenzoato; **7**: [(5R,11R,12R)-1,5,9-trimetil-10,13,14,15-tetraoxatetraciclo[9.3.1.04,12.08,12]pentadecan-9-il]metil 4-nitrobenzoato; **8**: [(5R,11R,12R)-1,5,9-trimetil-10,13,14,15-tetraoxatetraciclo[9.3.1.04,12.08,12]pentadecan-9-il]metil 4-fluorobenzoato; **9**: [(5R,11R,12R)-1,5,9-trimetil-10,13,14,15-tetraoxatetraciclo[9.3.1.04,12.08,12]pentadecan-9-il]metil 4-metilfuran-2-carboxilato; **10**: [(5R,11R,12R)-1,5,9-trimetil-10,13,14,15-tetraoxatetraciclo[9.3.1.04,12.08,12]pentadecan-9-il]metil benzofuran-2-carboxilato; **11**: (1R,6S,8R)-2,2,6-trimetil-8-[2-(p-tolil)etil]-7,9,10-trioxatriciclo[6.2.2.01,6]dodec-11-eno.

**Fig. 1** – Estructuras químicas de la artemisina y derivados 1,2,4-trioxanos sintéticos estudiados con fines antileishmaniales.

En fechas recientes se demostró que la muerte de parásitos de *Leishmania* tratados con ART depende de su interacción con el Fe<sup>2+</sup> y/o Fe(II)-hemo.<sup>(24,25,26)</sup> En este sentido, se confirmó que la concentración de hierro en el medio de cultivo de promastigotes afecta significativamente la actividad antileishmanial de este EP. Por tanto, el rango variable de CI<sub>50</sub> descrito para la ART y sus derivados (tabla 1) no solo se debe a la especie involucrada, sino también a las condiciones de ensayo, incluido el medio de cultivo.<sup>(26)</sup>

El hecho de que inhibidores de la hemo-oxigenasa de mamíferos actuaran de forma antagónica con respecto a la ART, confirmó que la hemo en combinación con diferentes reductores celulares favorece la activación de este EP en *Leishmania*, mediante vías enzimáticas que involucran la degradación del grupo hemo.<sup>(25)</sup> La

preferencia de la ART por la activación dependiente del grupo hemo sugiere su efectividad frente a macrófagos infectados e involucrados en la eritrofagocitosis. Teniendo en cuenta que este proceso tiene lugar en el bazo, uno de los órganos más afectados en pacientes con leishmaniasis visceral (LV), la activación mediada por hemo se asocia a las primeras actividades *in vivo* observadas, las cuales se realizaron frente a especies causantes de la forma visceral de la enfermedad.<sup>(27,28)</sup> En adición, la capacidad de este EP de controlar la leishmaniasis cutánea (LC) experimental, recientemente demostrado en modelos murinos infectados con especies del Viejo Mundo (Asia, África y el sur de Europa) y del Nuevo Mundo (Las Américas) y con diferentes susceptibilidades a la infección, resaltan el amplio espectro antileishmanial de este EP (tabla 2).

**Tabla 1** - Concentración inhibitoria media (CI<sub>50</sub>) de la artemisina y derivados 1,2,4-trioxanos sintéticos frente a parásitos de *Leishmania* documentada en la literatura en el período 2013-2022

Especie de <i>Leishmania</i>	Origen geográfico	Principal manifestación clínica	Modelos /resultados (CI <sub>50</sub> )	Referencias
<i>L. donovani</i>	Asia, África y el sur de Europa	leishmaniasis visceral	<b>Promastigotes</b> ART: 25 µM	29
			<b>Amastigotes</b> ART: 48 µM	
			<b>Promastigotes</b> EP5: 2-8 µM EP6: 3-4 µM EP7: 4-5 µM EP8: 8-10 µM EP9: 6-7 µM EP10: 10-14 µM	17
			<b>Promastigotes</b>	18

			EP11: 2,47 $\mu$ M	
<i>L. infantum</i>		leishmaniasis visceral	<b>Promastigotes</b> ATM: 84 $\mu$ M	30
			<b>Promastigotes</b> ATS: 40 $\mu$ M DHA: 123 $\mu$ M <b>Amastigotes</b> ATS: 122 $\mu$ M DHA: 104 $\mu$ M	31
			<b>Promastigotes</b> ART: 177 $\mu$ M	32
<i>L. major</i>		leishmaniasis cutánea	<b>Promastigotes</b> ATM: 84 $\mu$ M <b>Amastigotes</b> ATM: 84 $\mu$ M	33
			<b>Promastigotes</b> ART: 88 $\mu$ M <b>Amastigotes</b> ART: 1,4 mM	34
			<b>Promastigotes</b> EP5: 27 $\mu$ M EP6: 10 $\mu$ M EP7: 6 $\mu$ M EP8: 8 $\mu$ M EP9: 4 $\mu$ M EP10: 11 $\mu$ M	17

<i>L. braziliensis</i>	Las Américas	leishmaniasis cutánea	<b>Promastigotes</b> DHA: 62 µM <b>Amastigotes</b> DHA: 9 µM	23
<i>L. amazonensis</i>		leishmaniasis cutánea	<b>Amastigotes</b> ART: 15 µM ATM: 19 µM ATS: 16 µM DHA: 38 µM	35

Leyenda: ART: Artemisina; ATM: Arteméter; ATS: Artesunato; DHA: Dihidroartemisina; EP5-11: compuestos endoperóxidos 5-11 de la figura 1.

**Tabla 2** - Actividad antileishmanial *in vivo* de la artemisina y sus derivados documentada en la literatura en el período 2013-2022

Especie de <i>Leishmania</i>	Modelos / Resultados	Referencias
<i>L. infantum</i>	<b>BALB/c</b> ATM (Oral, IP) Control de la LVE	30
	<b>Diferentes razas caninas</b> ATS (Oral) Control de la LV canina	36
<i>L. major</i>	<b>BALB/c</b> ATM (Top, IL, Transd) Control de la LCE	37
	<b>BALB/c</b> ART (Top, IP) Control de la LCE	34

<i>L. amazonensis</i>	<b>BALB/c</b>	
	ATS (IP)	38
	Control de la LCE	
	<b>BALB/c</b>	
	ART/ATS (IL)	35
	Control de la LCE	
	<b>BALB/c; C57BL6</b>	
	ART (IL/Oral)	39
	Control de la LCE	

Leyenda: ART: Artemisina; ATM: Arteméter; ATS: Artesunato; IL: administración intralesional; IP: administración intraperitoneal; LCE: leishmaniasis cutánea experimental; Control de la LCE: disminución significativa de la carga parasitaria en las lesiones cutáneas de animales experimentalmente infectados; LVE: leishmaniasis visceral experimental; Control de la LVE: disminución significativa de la carga parasitaria en hígado y bazo de animales experimentalmente infectados; Top: administración tópica; Transd: administración transdermal.

Estas evidencias (tabla 2) sustentan el éxito observado tras el manejo terapéutico con ART de la LC en un gato infectado con *L. mexicana*, cuyos síntomas no habían mejorado con el tratamiento convencional.<sup>(40)</sup> Por otra parte, estudios recientes destacan al ATS como posible candidato antileishmanial. En particular, se demostraron sus propiedades neuroprotectoras y antiinflamatorias en un modelo murino de LC causada por *L. amazonensis*.<sup>(38)</sup> Los efectos del ATS frente a esta especie del parásito se corroboraron en un estudio posterior empleando un régimen de administración diferente.<sup>(35)</sup>

Aunque para los 1,2,4-trioxanos noveles se describió acción selectiva y buena actividad inhibitoria en promastigotes y amastigotes de *Leishmania*,<sup>(17,18)</sup> hasta la fecha no existen evidencias sobre sus potencialidades *in vivo*. Por tanto, sería interesante extender los estudios de actividad antileishmanial al empleo de modelos animales de leishmaniasis experimental.

Con la finalidad de favorecer las acciones inhibitorias de estos EP y reducir el riesgo de resistencia,<sup>(41,42)</sup> se han explorado las posibilidades que ofrecen las terapias combinadas y la nanotecnología frente a *Leishmania*. A partir de evaluaciones *in vitro* se sugirió que la administración de la ART en combinación con Glucantime®

o extracto de cartílago de tiburón es efectiva frente a *L. infantum*.<sup>(32)</sup> Además, tras evaluar el ATS en combinación de otros fármacos, se demostró un efecto sinérgico en compañía de la Anfotericina B®.<sup>(43)</sup> Want y colaboradores han explorado las ventajas de la administración de la ART en diferentes formulaciones nanoparticuladas.

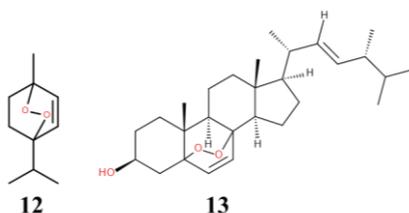
Por una parte, demostraron la capacidad de una formulación basada en ácido poliláctico co-glicólico de controlar eficazmente el curso de la enfermedad en modelos animales de LV y de restablecer la inmunidad celular.<sup>(44,45)</sup> Por otra parte, el empleo de una formulación nanoliposomal de ART demostró ser una alternativa prometedora contra la LV causada por *L. donovani* en ratones BALB/c.<sup>(46)</sup> En adición, la administración de nanopartículas (nano-ferro-magnetita) de pequeña talla con ART se empleó de forma efectiva como terapia combinada frente a la LC experimental causada por *L. major*, observándose un incremento en los niveles de IFN- $\gamma$  y una disminución de la IL-4.<sup>(47)</sup>

Adicionalmente, aunque falta por confirmar la eficacia *in vivo*, se demostraron *in vitro* las ventajas de emplear la nanotecnología en el diseño de otras novedosas formulaciones con fines antileishmaniales. En este sentido, nanopartículas conteniendo ART exhibieron propiedades antiparasíticas prometedoras, donde la liberación sostenida de ART garantizó el mantenimiento de su eficacia frente a esta misma especie.<sup>(48)</sup> En particular, diferentes formulaciones lipídicas nanoparticuladas conteniendo ATM incrementaron significativamente la actividad de este EP frente a parásitos de *L. major* y *L. infantum*, favoreciéndose su selectividad *in vitro*.<sup>(49,50)</sup>

El puente O-O de 1,2,4-trioxanos convencionales (semisintéticos) y relacionados (sintéticos) se resalta como elemento farmacofórico de estos compuestos.<sup>(5)</sup> Por tanto, no sorprende que otros compuestos con núcleos estructurales diferentes a la ART, pero que contienen el puente O-O, exhiban una potente actividad antileishmanial. En este sentido, se destacan 1,2-dioxanos de origen natural (fig. 2) y sintético (fig. 3), derivados sintéticos de 2-adamantano (fig. 4) y otros dos tetraoxanos (fig. 5). A continuación, se abordarán los principales estudios que resaltan las propiedades de estos EP frente a *Leishmania*.

## Endoperóxidos (1,2-dioxanos) de origen natural

Otro EP de origen vegetal que despierta especial interés es el ASC (fig. 2), identificado en el aceite esencial de *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants. Este monoterpreno cíclico clasifica como un 1,2-dioxano y ha sido reconocido por sus propiedades antiparasitarias.<sup>(51,52,53)</sup> El reino Fungi también es una fuente atractiva de compuestos químicos con un amplio espectro de actividades biológicas, donde los esteroides ocupan un espacio importante.<sup>(54)</sup> Por una parte, la actividad anti-*Leishmania* del ASC se demostró en modelos *in vitro* e *in vivo* (tabla 3); mientras que el ergosterol EP (fig. 2), aislado del hongo *Trametes versicolor* (Bres. Rivarden) y de la planta *Baphia leptobotrys* Harms, evidenció actividad inhibitoria (tabla 3) sobre *L. amazonensis*<sup>(55)</sup> y *L. donovani*<sup>(56)</sup> con escasa selectividad.<sup>(55)</sup>



Leyenda: Los endoperóxidos representados corresponden a **12**: ascaridol; **13**: ergosterol endoperóxido.

**Fig. 2** – Estructuras químicas de 1,2-dioxanos de origen natural estudiados con fines antileishmaniales.

**Tabla 3** - Actividad antileishmanial *in vitro* e *in vivo* del ascaridol y ergosterol endoperóxido (Ergo EP) documentada en la literatura en el período 2013-2022

Especie de <i>Leishmania</i>	Ensayo	Modelos / Resultados	Referencias
<i>L. donovani</i>	<i>In vitro</i> (CI <sub>50</sub> )	<b>Promastigotes</b> Ergo EP: 2 µM	56
		<b>Promastigotes</b> ASC: 2 µM <b>Amastigotes</b> ASC: 2 µM	57

<i>L. amazonensis</i>		<b>Promastigotes</b> Ergo EP: 13 µM	55
		<b>Amastigotes</b> Ergo EP: 4µM	
<i>L. amazonensis</i>		<b>Promastigotes</b> ASC: 0,6 µM	58
		<b>Amastigotes</b> ASC: 2 µM	
<i>L. amazonensis</i>	<i>In vivo</i> (ASC)	<b>BALB/c</b> (IL) Control de la LCE	59
		<b>BALB/c</b> (Oral/IL) Control de la LCE	60
		<b>C57BL6</b> (Oral/IL) Control de la LCE	

Legenda: CI<sub>50</sub>: concentración inhibitoria media; IL: administración intralesional; LCE: leishmaniasis cutánea experimental.

En cuanto al mecanismo de activación del ASC, se evidenció que su enlace O-O se rompe en presencia del Fe<sup>2+</sup>, proveniente o no del grupo hemo, dando lugar a radicales centrados en el carbono. A partir de la formación de estas especies, que desencadenan estrés oxidativo intracelular, se sugirieron posibles efectos indirectos del ASC sobre la mitocondria de *Leishmania*.<sup>(24,61)</sup>

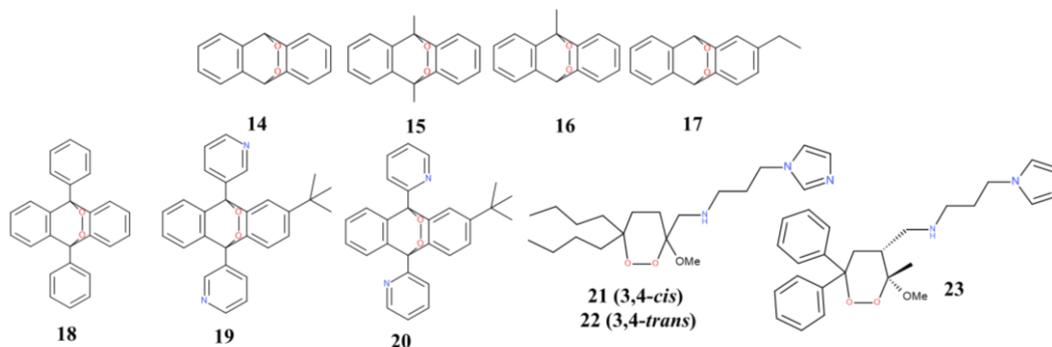
Recientemente, se confirmó que el ASC causa una mínima afectación mitocondrial, comprometiendo la actividad glicolítica. En general, se sugirió que los radicales libres autogenerados tras la activación del grupo EP alteran el balance redox del parásito e inhiben su actividad glicolítica, conduciendo a la muerte celular por apoptosis.<sup>(57)</sup> La mayor parte de las evidencias que resaltan al ASC como un candidato promisorio se enfocan en la especie *L. amazonensis* (tabla 3). Por tanto,

sería interesante estudiarlo sobre otras especies del parásito y frente a la LV experimental. De forma similar a las artemisininas, se recomienda explorar la inclusión de este EP en el diseño de formulaciones nanoparticuladas, así como evaluar las ventajas de su administración combinada con fármacos de referencia. Por otra parte, el ergosterol es el principal esteroide de las membranas parasitarias de la familia Trypanosomatidae, en lugar del colesterol, su contraparte en las células mamíferas.<sup>(62)</sup> La similitud estructural entre el ergosterol y el ergosterol EP permite explicar la habilidad de este segundo de incorporarse en las membranas plasmáticas del parásito. Cuando este reemplazo tiene lugar, la presencia del ergosterol se puede afectar ocasionando daños en las membranas citoplasmática, nuclear y kinetoplástica, lo que se traduce en modificaciones en la fluidez y morfología celular. Adicionalmente, la dispersión del ergosterol EP a través del citoplasma se asoció a su capacidad de penetrar la célula, causar interrupción de la producción metabólica y comprometer el transporte mediado por lípidos al establecer interacciones de alta afinidad con CYP51; una enzima biotransformadora que se distingue por su función en la síntesis de esteroides de las membranas parasitarias.<sup>(63)</sup>

Estas observaciones hacen pensar que otros EP de naturaleza terpénica o esteroide pudieran ejercer una actividad farmacológica similar. Recientemente, se revisaron más de 90 EP terpénicos de origen marino, algunos de los cuales han demostrado actividad anti-*Plasmodium*.<sup>(64)</sup> En adición, a partir del reino Fungi se identificaron cerca de 80 compuestos estructuralmente relacionados con el ergosterol EP,<sup>(11,46,65,66)</sup> de los cuales poco se conoce sobre sus potencialidades antiparasitarias.<sup>(67)</sup> Basado en los antecedentes descritos sería interesante estudiar la actividad antileishmanial de estos nuevos compuestos, en búsqueda de alternativas farmacológicas más potentes, de mayor selectividad y con mejores propiedades farmacocinéticas.

## Endoperóxidos (1,2-Dioxanos) de origen sintético

Diferentes 1,2-dioxanos derivados del antraceno (AcEP) obtenidos por síntesis química (fig. 3)<sup>(68,69)</sup> también han sido evaluados *in vitro* frente a *Leishmania* (tabla 4).



Leyenda: Los endoperóxidos representados corresponden con: **14**: 9,10-dihidro-9,10-epidioxidoantraceno (AcEP1117); **15**: 9,10-dimetil-9,10-dihidro-9,10-epidioxidoantraceno (AcEP1118); **16**: 9-metil-9,10-dihidro-9,10-epidioxidoantraceno (AcEP1129); **17**: 2-etil-9,10-dihidro-9,10-epidioxidoantraceno (AcEP1130); **18**: 9,10-difenil-9,9-dihidro-9,10-epidioxidoantraceno (DPAcEP); **19**: 9,10-bis-(3-piridil)-2-tertbutil-9,10-dihidro-9,10-epidioxidoantraceno (mPyBuAcEP); **20**: 9,10-bis-(2-pridil)-9,10-dihidro-9,10-epidioxidoantraceno (pPyBuAcEP); **21**: N-[(6,6-dibutil-3-metoxi-dioxan-3-il)metil]-3-imidazol-1-il-propan-1-amina (3,4-*cis*); **22**: N-[(6,6-dibutil-3-metoxi-dioxan-3-il)metil]-3-imidazol-1-il-propan-1-amina (3,4-*trans*); **23**: 3-imidazol-1-il-N-[(3R,4R)-3-metoxi-3-metil-6,6-difenil-dioxan-4-il]metil]propan-1-amina.

**Fig. 3** – Estructuras químicas de los principales 1,2-dioxanos de origen sintético estudiados con fines antileishmaniales en el período 2013-2022.

Un primer grupo de AcEP demostró activarse intracelularmente dando lugar a la formación de radicales centrados en el carbono, importantes para su actividad farmacológica, la cual se asoció a la formación adicional de radical superóxido; así como a la ocurrencia de afectaciones a nivel mitocondrial.<sup>(70)</sup> La escasa selectividad observada motivó el diseño y síntesis de nuevos AcEP, los que tras ser evaluados frente a *L. tarentolae* mostraron valores de  $CI_{50}$  en el mismo rango micromolar (tabla 4). Por tanto, la inserción de sustituyentes de mayor complejidad como los grupos piridilo y fenilo mantuvo la potente actividad antileishmanial en este grupo de compuestos.

En particular, los AcEP más efectivos resultaron aquellos con sustituyentes de naturaleza piridilo/ter-butilo, como el mPyBuAcEP, para el cual se demostró una elevada selectividad. Aunque la mayoría de los nuevos AcEP no influyeron significativamente en el consumo de oxígeno mitocondrial, para mPyBuAcEP la

producción adicional de radical superóxido se asoció a una marcada afectación del control respiratorio del parásito.<sup>(71)</sup> Teniendo en cuenta los resultados interesantes obtenidos para este compuesto, sería recomendable seguir estudiando sus propiedades antileishmaniales: (i) sobre especies patógenas de *Leishmania*, (ii) frente a las formas amastigotes del parásito y (iii) empleando modelos animales apropiados de leishmaniasis.

**Tabla 4** - Concentración inhibitoria media (CI<sub>50</sub>) de endoperóxidos 1,2-dioxanos de origen sintético frente a *Leishmania* documentada en la literatura en el período 2013-2022

Especie de <i>Leishmania</i>	Modelos /Resultados (CI <sub>50</sub> )	Referencias
<i>L. donovani</i>	<b>Promastigotes</b> AcEP1117: 2,6 µM AcEP1118: 4,1 µM AcEP1129: 4,2 µM AcEP1130: 39,4 µM	70
	<b>Promastigotes</b> EP21: 6 µM EP22: 4 µM <b>Amastigotes</b> EP21: 12 µM EP22: 10 µM	72
	<b>Promastigotes</b> EP23: 6 µM <b>Amastigotes</b> EP23: 5 µM	73
<i>L. tarentolae</i>	<b>Promastigotes</b> AcEP1117: 5,7 µM AcEP1118: 1,0 µM AcEP1129: 0,6 µM	70

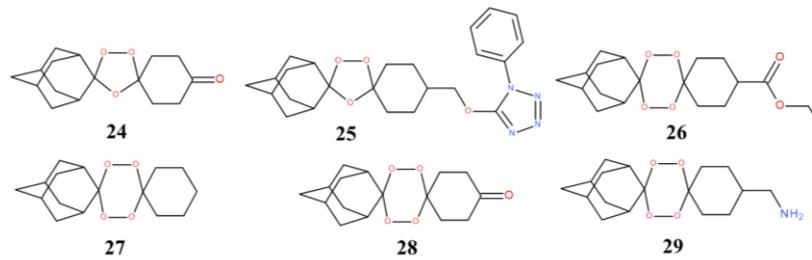
	AcEP1130: 0,2 $\mu$ M	
	<b>Promastigotes</b>	
	mPyBuAcEP: 0,7 $\mu$ M	71
	pPyBuAcEP: 0,7 $\mu$ M	
	DPAcEP: 9,7 $\mu$ M	

Leyenda: AcEP1117, AcEP1118, AcEP1129, AcEP1130, mPyBuAcEP, pPyBuAcEP, DPAcEP: derivados de antraceno representados en la figura 3 como compuestos 14-20; EP21-EP23: compuestos endoperóxidos 21-23 de la figura 3.

Aunque está pendiente confirmar las potencialidades en modelos animales de infección, existen evidencias que destacan las propiedades antileishmaniales de otros 1,2-dioxanos de origen sintético. En particular, seis dioxanos se destacaron por ser activos frente a promastigotes de *L. tropica*, *L. major*, *L. infantum* y *L. donovani*. Para esta última especie, la potente actividad inhibitoria de tres compuestos se mantuvo frente a amastigotes de *L. donovani* y con escasos efectos citotóxicos sobre células de mamífero (tabla 4). Teniendo en cuenta que estos compuestos se acumularon fundamentalmente en el citoplasma y el kinetoplasto del parásito, se espera que su diana molecular se encuentre en estas localizaciones.<sup>(72,73)</sup>

### Endoperóxidos sintéticos derivados de 2-adamantano

La síntesis química también se ha utilizado para obtener diferentes familias de EP cíclicos derivados de 2-adamantano, identificados como: trioxolanos y tetraoxanos (fig. 4), los cuales han demostrado actividad inhibitoria sobre especies de *Leishmania*, principalmente en modelos *in vitro* (tabla 5).



Nota: Los endoperóxidos representados corresponden con: **24**: Adamantane-2-spiro-3'-8'-oxo-1',2',4'-trioxaspiro[4,5]decano; **25**: 5-((Dispiro[ciclohexano-1,3'-[1,2,4]trioxolano-5',2''-tricyclo[3.3.1.1<sup>3,7</sup>]decan]-4-yl)metoxi)-1-fenil-1H-1,2,3,4-tetraazol; **26**: Etil dispiro [ciclohexano-1,3'-[1,2,4,5]tetraoxano-6',2''-tricyclo[3.3.1.1<sup>3,7</sup>]decano]-4-carboxilato; **27**: Dispiro[ciclohexano-1,3'-[1,2,4,5]tetraoxano-6',2''-tricyclo[3.3.1.1<sup>3,7</sup>]decano]; **28**: Dispiro[ciclohexano-1,3'-[1,2,4,5]tetraoxano-6',2''-tricyclo[3.3.1.1<sup>3,7</sup>]decan]-4-ona; **29**: Dispiro[ciclohexano-1,3'-[1,2,4,5]tetraoxano-6',2''-tricyclo[3.3.1.1<sup>3,7</sup>]decan]-4-metilamina.

**Fig. 4** – Estructuras químicas de los principales derivados sintéticos de 2-adamantano estudiados con fines antileishmaniales en el período 2013-2022.

**Tabla 4** - Actividad antileishmanial *in vitro* e *in vivo* de trioxolanos y tetraoxanos de origen sintético derivados de 2-adamantano documentada en la literatura en el período 2013-2022

Especie de <i>Leishmania</i>	Compuestos	Ensayo	Modelos/Resultados	Referencias
<i>L. donovani</i>	Trioxolanos	<i>In vitro</i> (Cl <sub>50</sub> )	<b>Promastigotes</b> EP25: 14 µM <b>Amastigotes</b> EP25: 9 µM	74
<i>L. infantum</i>			<b>Promastigotes</b> EP25: 13 µM <b>Amastigotes</b> EP25: 13 µM	
			<b>Promastigotes</b> EP24: 9 µM <b>Amastigotes</b> EP24: 80 µM	31
<i>L. donovani</i>	Tetraoxanos	<i>In vitro</i> (Cl <sub>50</sub> )	<b>Amastigotes</b> EP27: 8 µM	75

			EP28: 3 $\mu$ M EP29: 8 $\mu$ M	
		<i>In vivo</i> (EP28)	<b>BALB/c</b> (IP) Control de la LVE	
<i>L. infantum</i>		<i>In vitro</i> (CI <sub>50</sub> )	<b>Promastigotes</b> EP26: 128 $\mu$ M <b>Amastigotes</b> EP26: 24 $\mu$ M	74

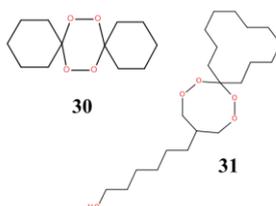
Leyenda: CI<sub>50</sub>: concentración inhibitoria media; IP: administración intraperitoneal. EP24-29: compuestos endoperóxidos 24-29 de la figura 4.

Entre los trioxolanos estudiados<sup>(31,74)</sup> se destaca el compuesto EP25, el cual presentó actividad inhibitoria frente a las especies *L. infantum* y *L. donovani* con valores de CI<sub>50</sub> < 15  $\mu$ M. Por otra parte, el trioxano EP24 demostró potente actividad anti-promastigotes de *L. infantum*.<sup>(31)</sup> Un compuesto estructuralmente similar a EP24, identificado como EP28, se identificó como molécula líder tras demostrar la efectividad y selectividad *in vitro* frente a *L. donovani*. Teniendo en cuenta que EP28 se distingue por presentar un oxígeno adicional en su estructura, los resultados obtenidos destacan las bondades de los tetraoxanos frente a estos parásitos. Además, al administrarse intraperitonealmente logró reducir en un 37 % la carga parasitaria en el hígado de ratones BALB/c infectados con esta misma especie, demostrándose su efectividad frente a la LV experimental.<sup>(75)</sup> A partir de estas observaciones, sería particularmente interesante confirmar las potencialidades de EP28 sobre otras especies del parásito y empleando otros modelos animales de leishmaniasis.

### Otros tetraoxanos sintéticos

Otros tetraoxanos estudiados sobre especies de *Leishmania* son (i) 7,8,15,16-tetraoxadispiro[5.2.59.26]hexadecano (compuesto 30, fig. 5)<sup>(76)</sup> y (ii) 6-(1,2,6,7-tetraoxaspiro[7.11]nonadec-4-il) hexan-1-ol (N-251, fig. 5). El primero demostró ser

muy activo ( $CI_{50}$ : 0,6  $\mu$ M) y con una elevada selectividad frente a amastigotes de *L. amazonensis*.<sup>(76)</sup> El segundo evidenció un amplio espectro antileishmanial *in vitro* frente a *L. infantum*, *L. chagasi* y *L. donovani*. En este sentido, mostró valores de  $CI_{50}$  entre 6 y 27  $\mu$ M frente a diferentes promastigotes del complejo *L. donovani*, así como una  $CI_{50}$  de 7  $\mu$ M sobre amastigotes de esta misma especie. Tras ser administrado oralmente a ratones BALB/c con LV causada por *L. donovani*, logró reducir la carga parasitaria en hígado y bazo en un 86 % y un 97 %, respectivamente.<sup>(77)</sup> Considerando estos hallazgos, sería recomendable profundizar en el mecanismo de acción de este tetraoxano, así como estudiar sus potencialidades frente a especies de *Leishmania* del Nuevo Mundo y en modelos de LC experimental.



Nota: Los endoperóxidos representados corresponden a: **30**: 7,8,15,16-tetraoxadispiro[5.2.59.26]hexadecan0; **31**: 6-(1,2,6,7-tetraoxaspiro[7.11]nonadec-4-il) hexan-1-ol (N-251).

**Fig. 5** – Estructuras químicas de tetraoxanos de origen sintético con actividad antileishmanial.

### **Función farmacofórica del enlace O-O e influencia de la estructura residual**

La actividad antileishmanial de la ART y el ASC se asocia con la ruptura del puente O-O, estableciéndose una dependencia entre el enlace peroxídico y el potencial farmacológico de estos fármacos.<sup>(24,31,78)</sup> Por tanto, no es de sorprender que en todos los derivados de la ART disponibles en la clínica se mantenga esta función química (fig. 1), cuya activación en *Leishmania* está mediada por el Fe(II), proveniente o no del grupo hemo.<sup>(25)</sup> En estos parásitos, el requisito previo para la eficacia de los EP exógenos es la abundancia de hierro y hemo, así como su limitada protección contra el estrés oxidativo.<sup>(79,80)</sup>

En correspondencia, no se observaron efectos inhibitorios sobre el crecimiento de *Leishmania* empleando deoxi-ART.<sup>(25,35)</sup> De forma similar, la evaluación de otros compuestos deoxigenados (deoxi-DHA y deoxi-ATS) sobre promastigotes de *L. infantum* arrojó valores mayores de  $CI_{50}$  y una menor selectividad con respecto a sus precursores peroxídicos.<sup>(31)</sup> El 1,4-cineol, análogo no EP del ASC, tampoco demostró tener acción inhibitoria sobre promastigotes de *L. tarentolae*.<sup>(24)</sup> Adicionalmente, una mayor actividad fue observada para el ergosterol EP en comparación con el ergosterol que resultó inactivo sobre *L. amazonensis*,<sup>(55)</sup> lo cual enfatizó el rol del enlace O-O. En modo general, los mayores valores de  $CI_{50}$  obtenidos para los análogos no EP, con respecto a los AcEP, indicaron la importancia de este grupo funcional en la acción antileishmanial de estos compuestos.<sup>(70,71)</sup>

Con el objetivo de contribuir a una mejor comprensión de la actividad antiprotozoaria de los EP, se estudió la relación estructura-actividad de una serie 1,2,4-trioxanos sintéticos, de menor complejidad estructural con respecto a las artemisininas. Los trioxanos ensayados presentaron diversidad de sustituyentes en las posiciones R1 y R2 e hidrogenación selectiva en el alqueno del heterociclo donde se encuentra el puente O-O. Un elemento que se identificó como crucial para la actividad antileishmanial fue la presencia de un sustituyente diferente al grupo metilo en la posición R2 ( $R2 \neq Me$ ). Las modificaciones en el anillo fusionado al núcleo del trioxano y la hidrogenación del doble enlace presente en el sistema aromático oxigenado no influyeron significativamente en la actividad biológica de estos compuestos; indicando la importancia farmacofórica del enlace peroxídico frente a promastigotes de *L. donovani*.<sup>(18)</sup>

En contraste, al investigarse la relación estructura-actividad antileishmanial de algunos 1,2-dioxanos de origen sintético, con estructuras de menor complejidad con respecto a los AcEP, se identificaron los siguientes requisitos farmacofóricos: (i) una cadena lipofílica lateral debe estar presente en C6; (ii) una larga cadena lipofílica en C3 incrementa la citotoxicidad; (iii) la relativa estereoquímica en C3-C4 afecta débilmente la actividad antileishmanial y (iv) un anillo heteroaromático tiene que estar presente en C4; donde la naturaleza química de este último afecta significativamente la actividad y la toxicidad de los 1,2-dioxanos ensayados.<sup>(72)</sup>

Posteriormente, el mismo grupo de investigación demostró que el grupo peróxido de estos compuestos, y el hierro disponible, no son indispensables para la acción inhibitoria frente a *Leishmania*.<sup>(73)</sup>

Curiosamente, los análogos no EP de mPyBuAcEP y pPyBuAcEP resultaron ser más potentes y selectivos que sus contrapartes frente a *L. tarentolae*. En este sentido, se indicó que la estructura molecular acompañante del grupo EP contribuye significativamente a la acción inhibitoria sobre la mitocondria del parásito. Por tanto, la inhibición del consumo de oxígeno no es una propiedad del enlace O-O *per se*, al menos para estos dos AcEP.<sup>(71)</sup>

Existen evidencias experimentales que sustentan el rol farmacofórico del enlace peroxídico en la actividad antileishmanial de compuestos EP como la ART y sus derivados, el ASC, el ergosterol EP y AcEP1117. En particular, cuando se compararon las propiedades antileishmaniales del ASC y la ART, se constató que la ruptura de este enlace tras la reacción con especies de hierro causa la formación de radicales citotóxicos, implicados en las acciones inhibitorias de ambos compuestos. Sin embargo, la estructura acompañante determinó la reactividad en presencia de diversas fuentes de hierro, la selectividad y la naturaleza química de los radicales formados.<sup>(24)</sup>

Considerando los estudios de relación estructura-actividad abordados es preciso indicar que si bien el enlace O-O contribuye a la actividad farmacológica y selectividad de los compuestos EP, incluso en algunos casos a la citotoxicidad, no es el único elemento que determina la eficiencia antileishmanial de esta familia de moléculas. Más allá del elemento en común que presentan (enlace O-O), entre los EP considerados existe una gran diversidad estructural, lo cual dificulta el poder establecer una única regla de relación estructura-actividad que se ajuste al comportamiento de todos los compuestos en cuestión. A medida que se analizan estructuras de mayor complejidad estructural, incrementan las posibilidades de identificar elementos farmacofóricos adicionales al puente O-O, que incluso pueden solapar la función de este grupo químico. Por tanto, no se puede ignorar la influencia de la estructura residual en la actividad antileishmanial de los EP, ni la ocurrencia de acciones inhibitorias independientes a este agrupamiento funcional.

## Conclusiones

Las potencialidades demostradas por los EP motivan a continuar investigando en esta dirección, dado que la actividad antileishmanial de estos compuestos ha sido evidenciada con diferentes niveles de avance; fundamentalmente *in vitro* y frente a especies de *Leishmania* de Asia, África y el sur de Europa. Para algunos EP se ha propuesto la función mitocondrial como diana molecular; mientras que en otros casos se sospecha la participación de las membranas, citoplasma y/o kinetoplasto del parásito en el mecanismo de acción.

Con vistas a profundizar en la actividad antileishmanial de EP promisorios, nuevos estudios enfocados en los mecanismos de acción directa son necesarios. Para aquellos compuestos que han demostrado actividad sobre más de una especie de *Leishmania* y una selectividad aceptable, se recomienda extender los estudios a otras especies del parásito, así como emplear modelos animales de infección. En modo general, la presente revisión ofrece una perspectiva amplia y renovada de las posibilidades que puede ofrecer esta particular y diversa familia de compuestos frente a *Leishmania* spp.

La información reunida puede facilitar el reposicionamiento farmacológico y/o la identificación de propuestas interesantes que sirvan de punto de partida para el desarrollo de una nueva opción terapéutica. Adicionalmente, EP diferentes a los descritos en esta revisión y que han sido resaltados en la literatura por su actividad antiinfecciosa,<sup>(81,82,83,84)</sup> también pueden ser explorados con fines antileishmaniales.

## Referencias bibliográficas

1. Mann S, Frasca K, Scherrer S, Henao-Martínez AF, Newman S, Ramanan P, *et al.* A Review of leishmaniasis: Current knowledge and future directions. *Curr Trop Med Rep.* 2021;8(2):121-32 DOI: <https://doi.org/10.1007/s40475-021-00232-7>
2. Organización Mundial de la Salud. Leishmaniasis, nota descriptiva, 2022 [acceso 03/12/2022] Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/factsheets/detail/leishmaniasis>

3. Moafi M, Rezvan H, Sherkat R, Taleban R. Leishmania vaccines entered in clinical trials: A review of literature. *Int J Prev Med.* 2019;10:95. DOI: [https://doi.org/10.4103/ijpvm.IJPVM\\_116\\_18](https://doi.org/10.4103/ijpvm.IJPVM_116_18)
4. Olías-Molero AI, de la Fuente C, Cuquerella M, Torrado JJ, Alunda JM. Antileishmanial drug discovery and development: Time to reset the model? *Microorganisms.* 2021;9(12):2500. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms9122500>
5. Rudrapal M, Chetia D. Endoperoxide antimalarials: development, structural diversity and pharmacodynamic aspects with reference to 1,2,4-trioxane-based structural scaffold. *Drug Des Devel Ther.* 2016;10:3575-90. DOI: <https://doi.org/10.2147/DDDT.S118116>
6. Loo CS, Lam NS, Yu D, Su XZ, Lu F. Artemisinin and its derivatives in treating protozoan infections beyond malaria. *Pharmacol Res.* 2017;117:192-217. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2016.11.012>
7. Fudickar W; Linker T. Release of singlet oxygen from aromatic endoperoxides by chemical triggers. *Angew Chem Int Ed Engl.* 2018;57(39):12971-5. DOI: <https://doi.org/10.1002/anie.201806881>
8. Plastaras JP, Guengerich FP, Nebert DW, Marnett LJ. Xenobiotic-metabolizing cytochromes P450 convert prostaglandin endoperoxide to hydroxyheptadecatrienoic acid and the mutagen, malondialdehyde. *J Biol Chem.* 2000;275(16):11784-90. DOI: <http://doi.org/10.1074/jbc.275.16.11784>
9. Zeilhofer HU. Prostanoids in nociception and pain. *Biochem Pharmacol.* 2007;73(2):165-74. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.bcp.2006.07.037>
10. Dembitsky VM. Bioactive peroxides as potential therapeutic agents. *Eur J Med Chem.* 2008;43(2):223-51. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.ejmech.2007.04.019>
11. Dembitsky VM, Ermolenko E, Savidov N, Glorizova TA, Poroikov VV. Antiprotozoal and antitumor activity of natural polycyclic endoperoxides: Origin, structures and biological activity. *Molecules.* 2021;26(3):686. DOI: <http://doi.org/10.3390/molecules26030686>
12. Clennan EL. Aromatic endoperoxides. *Photochem Photobiol.* 2022. DOI: <http://doi.org/10.1111/php.13674>

13. Uddin A, Chawla M, Irfan I, Mahajan S, Singh S, Abid M. Medicinal chemistry updates on quinoline-and endoperoxide-based hybrids with potent antimalarial activity. RSC Med Chem. 2021;12(1):24-42. DOI: <http://doi.org/10.1039/d0md00244e>
14. Tran T, Qiao Y, You H, Cheong DH. Chronic inflammation in asthma: Antimalarial drug artesunate as a therapeutic agent. En: Chatterjee S, Jungraithmayr W, Bagchi D (Eds.): Immunity and Inflammation in Health and Disease. 1st edition. London, New York, Cambridge, Oxford: Academic Press; 2018:309-18.
15. Manske M, Miotto O, Campino S, Auburn S, Zongo I, Ouedraogo J, *et al.* Analysis of *Plasmodium falciparum* diversity in natural infections by deep sequencing. Nature. 2012; 487(7407):375-9. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature11174>
16. Laranjeira-Silva MF, Hamza I, Pérez JM. Iron and heme metabolism at the *Leishmania* host interface. Trends Parasitol. 2020;36(3):279-89. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pt.2019.12.010>
17. Aucamp J, Zuma NH, N'Da D. *In vitro* efficacy of synthesized artemisinin derivatives against *Leishmania* promastigotes. Bioorg Med Chem Lett. 2020;30(22):127581. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2020.127581>
18. Medrán NS, Sayé M, Pereira CA, Tekwani BL, La-Venia A, Labadie GR. Expanding the scope of synthetic 1,2,4-trioxanes towards *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania donovani*. Bioorg Med Chem Lett. 2020;30(20):127491. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2020.127491>
19. Sen R, Saha P, Sarkar P, Ganguly S, Chatterjee M. Iron enhances generation of free radicals by artemisinin causing a caspase-independent, apoptotic death in *Leishmania donovani* promastigotes. Free Rad Res. 2010;44(11):1289-95. DOI: <https://doi.org/10.3109/10715762.2010.498475>
20. Sen R, Bandyopadhyay S, Dutta A, Mandal G, Ganguly S, Saha P, *et al.* Artemisinin triggers induction of cell-cycle arrest and apoptosis in *Leishmania donovani* promastigotes. J Med Microbiol. 2007;56(9):1213-8. DOI: <https://doi.org/10.1099/jmm.0.47364-0>
21. De Sarkar S, Sarkar D, Sarkar A, Dighal A, Chakrabarti S, Staniek K, *et al.* The leishmanicidal activity of artemisinin is mediated by cleavage of the endoperoxide

- bridge and mitochondrial dysfunction. *Parasitol.* 2019;146(4):511-20. DOI: <https://doi.org/0.1017/S003118201800183X>
22. Neamah SD, Ali HZ, Al-Halbosiy M. Detection of artemisinin effect on macrophage inducible nitric oxide gene expression in macrophage infected with *Leishmania donovani*. *Ann Parasitol.* 2022;68(2):331-8. DOI: <https://doi.org/10.17420/ap6802.439>
23. Grazzia N, Boaventura S, Garcia V, Gadelha F, Miguel D. Dihydroartemisinin, an active metabolite of artemisinin, interferes with *Leishmania braziliensis* mitochondrial bioenergetics and survival. *Parasitol Res.* 2021;120(2):705-13. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00436-020-07019-1>
24. Geroldinger G, Tonner M, Hettegger H, Bacher M, Monzote L, Walter M, et al. Mechanism of ascaridole activation in *Leishmania*. *Biochem Pharmacol.* 2017;132:48-62. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.bcp.2017.02.023>
25. Geroldinger G, Tonner M, Quirgst J, Walter M, De Sarkar S, Machín L, et al. Activation of artemisinin and heme degradation in *Leishmania tarentolae* promastigotes. *Biochem Pharmacol.* 2020;173:113737. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2019.113737>
26. Dighal A, De Sarkar S, Gille L, Chatterjee M. Can the iron content of culture media impact on the leishmanicidal effect of artemisinin? *Free Radic Res.* 2021;55(3):282-95. DOI: <https://doi.org/0.1080/10715762.2021.1939325>
27. Sen R, Ganguly S, Saha P, Chatterjee M. Efficacy of artemisinin in experimental visceral leishmaniasis. *Int J Antimicrob Agents.* 2010;36(1):43-9. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2010.03.008>
28. Mutiso JM, Macharia JC, Barasa M, Taracha E, Bourdichon AJ, Gicheru MM. *In vitro* and *in vivo* antileishmanial efficacy of a combination therapy of diminazene and artesunate against *Leishmania donovani* in BALB/c mice. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2011;53(3):129-32. DOI: <https://doi.org/10.1590/s0036-46652011000300003>
29. Al-Halbosiy M, Ali H, Hassan GM, Ghaffarifar F. Artemisinin efficacy against old world *Leishmania donovani*: *in vitro* and *ex vivo* study. *Ann Parasitol.* 2020;66(3):295-302 DOI: <https://doi.org/10.17420/ap6603.267>

30. Dehkordi N, Ghaffarifar F, Hassan Z, Heydari F. *In vitro* and *in vivo* studies of antileishmanial effect of artemether on *Leishmania infantum*. Jundish J Microbiol. 2013;6(5):e6379. DOI: <https://doi.org/10.5812/jjm.6379>
31. Cortes S, Albuquerque A, Cabral LI, Lopes L, Campino L, Cristiano ML. *In vitro* susceptibility of *Leishmania infantum* to artemisinin derivatives and selected trioxolanes. Antimicrob Agents Chemother. 2015;59(8):5032-5. DOI: <https://doi.org/10.1128/AAC.00298-15>
32. Molaie S, Ghaffarifar F, Hasan ZM, Dalimi A. Enhancement effect of shark cartilage extract on treatment of *Leishmania infantum* with artemisinin and glucantime and evaluation of killing factors and apoptosis *in vitro* condition. Iran J Pharm Res. 2019;18(2):887-902 DOI: <https://doi.org/10.22037/ijpr.2019.1100656>
33. Ebrahimisadr P, Ghaffarifar F, Mohammad Z. In-vitro evaluation of antileishmanial activity and toxicity of artemether with focus on its apoptotic effect. Iran J Pharm Res. 2013 [acceso 03/12/2022];12(4):903-9. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24523770/>
34. Ghaffarifar F, Heydari F, Dalimi A, Hassan Z, Delavari M, Mikaeiloo H. Evaluation of apoptotic and antileishmanial activities of artemisinin on promastigotes and BALB/C mice infected with *Leishmania major*. Iran J Parasitol. 2015 [acceso 03/12/2022];10(2):258-67. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26246824/>
35. Machín L, Nápoles R, Gille L, Monzote L. *Leishmania amazonensis* response to artemisinin and derivatives. Parasitol Int. 2021;80:102218. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.parint.2020.102218>
36. Medkour H, Bitam I, Laidoudi Y, Lafri I, Lounas A, Hamidat HK, *et al*. Potential of artesunate in the treatment of visceral leishmaniasis in dogs naturally infected by *Leishmania infantum*: Efficacy evidence from a randomized field trial. PLoS Negl Trop Dis. 2020;14(12):e0008947. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008947>
37. Ebrahimisadr P, Ghaffarifar F, Hassan ZM, Sirousazar M, Mohammadnejad F. Effect of polyvinyl alcohol (PVA) containing artemether in treatment of cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania major* in BALB/c mice. Jundishapur J Microbiol. 2014;7(5):e9696. DOI: <https://doi.org/10.5812/jjm.9696>

38. Gugliandolo E, Palma E, Peritore A, Siracusa R, D'Amico R, Fusco R, *et al.* Effect of artesunate on *Leishmania amazonensis* induced neuroinflammation and nociceptive behavior in male BALB/c mice. *Animals*. 2020;10(4):557. DOI: <https://doi.org/10.3390/ani10040557>
39. Machín L, Alcantar J, Lars G, Monzote L. Efficacy of artemisinin in mouse models of experimental cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania amazonensis*. *Rev Cub Med Trop*. 2022 [acceso 03/12/2022];74(3). Disponible en: <https://revmedtropical.sld.cu/index.php/medtropical>
40. Hopke K, Meyers A, Auckland L, Hamer S, Florin D, Diesel A, *et al.* *Leishmania mexicana* in a central Texas cat: clinical presentation, molecular identification, sandfly vector collection and novel management. *JFMS Open Rep*. 2021; 7(1):2055116921999595. DOI: <http://doi.org/10.1177/2055116921999595>
41. Verma A, Ghosh S, Salotra P, Singh R. Artemisinin-resistant *Leishmania* parasite modulates host cell defense mechanism and exhibits altered expression of unfolded protein response genes. *Parasitol Res*. 2019;118(9):2705-2713. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00436-019-06404-9>
42. Ghosh S, Verma A, Kumar V, Pradhan D, Selvapandiyar A, Salotra, *et al.* Genomic and transcriptomic analysis for identification of genes and interlinked pathways mediating artemisinin resistance in *Leishmania donovani*. *Genes*. 2020;11(11):1362. DOI: <https://doi.org/10.3390/genes11111362>
43. Intakhan N, Siriyasatien P, Chanmol W. Anti-*Leishmania* activity of artesunate and combination effects with amphotericin B against *Leishmania (Mundinia) martiniquensis* *in vitro*. *Acta Trop*. 2022;226:106260. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2021.106260>
44. Want MY, Islamuddin M, Chouhan G, Dasgupta AK, Chattopadhyay AP, Afrin F. A new approach for the delivery of artemisinin: formulation, characterization, and *ex-vivo* antileishmanial studies. *J Colloid Interface Sci*. 2014;432:258-69. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2014.06.035>
45. Want MY, Islamuddin M, Chouhan G, Ozbak HA, Hemeg HA, Dasgupta AK, *et al.* Therapeutic efficacy of artemisinin-loaded nanoparticles in experimental visceral leishmaniasis. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2015;130:215-21. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2015.04.013>

46. Want MY, Islammudin M, Chouhan G, Ozbak HA, Hemeg HA, Chattopadhyay AP, et al. Nanoliposomal artemisinin for the treatment of murine visceral leishmaniasis. *Int J Nanomedicine*. 2017;12:2189-2204. DOI: <http://doi.org/10.2147/IJN.S106548>
47. Ghaffarifar F, Molaie S, Abazari R, Hasan ZM, Foroutan M. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@Bio-MOF nanoparticles combined with artemisinin, Glucantime® or shark cartilage extract on Iranian strain of *Leishmania major* (MRHO/IR/75/ER): An *in vitro* and *in vivo* study. *Iran J Parasitol*. 2020;15(4):537-48. DOI: <https://doi.org/10.18502/ijpa.v15i4.4859>
48. Tsamesidis I, Lymperaki E, Egwu CO, Pouroutzidou GK, Kazeli K, Reybier, K, et al. Effect of silica-based nanoparticles against *Plasmodium falciparum* and *Leishmania infantum* parasites. *J Xenobiot*. 2021;11(4):155-62. DOI: <https://doi.org/10.3390/jox11040011>
49. Khazaei M, Rahnama V, Motazedian M, Samani SM, Hatam G. *In vitro* effect of artemether-loaded nanostructured lipid carrier (NLC) on *Leishmania infantum*. *J Parasit Dis*. 2021;45(4):964-71 DOI: <https://doi.org/10.1007/s12639-021-01373-2>
50. Rahnama V, Motazedian MH, Mohammadi-Samani S, Asgari Q, Ghasemiyeh P, Khazaei M. Artemether-loaded nanostructured lipid carriers: preparation, characterization, and evaluation of *in vitro* effect on *Leishmania major*. *Res Pharm Sci*. 2021;16(6):623-33. DOI: <https://doi.org/10.4103/1735-5362.327508>
51. Pollack Y, Segal R, Golenser J. The effect of ascaridole on the *in vitro* development of *Plasmodium falciparum*. *Parasitol Res*. 1990;76(7):570-2. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00932563>
52. Kiuchi F, Itano Y, Uchiyama N, Honda G, Tsubouchi A, Nakajima-Shimada J, et al. Monoterpene hydroperoxides with trypanocidal activity from *Chenopodium ambrosioides*. *J Nat Prod*. 2002;65(4):509-12. DOI: <https://doi.org/10.1021/np010445g>
53. Monzote L, Almannoni S, Montalvo AM, Scull R, Miranda M, Abreu J. Activity of essential oil from *Chenopodium ambrosioides* grown in Cuba against *Leishmania amazonensis*. *Chemotherapy*. 2006;52(3):130-6. DOI: <https://doi.org/10.1159/000092858>

54. Zhabinskii VN, Drasar P, Khripach VA. Structure and biological activity of ergostane-type steroids from Fungi. *Molecules*. 2022;27(7):2103. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules27072103>
55. Leliebre V, Monzote L, Pferschy-Wenzig EM, Kunert O, Lima CN, Bauer R. *In Vitro* antileishmanial activity of sterols from *Trametes versicolor* (Bres. Rivarden). *Molecules*. 2016;21(8):1045. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules21081045>
56. Wonkam AK, Ngansop CA, Tchienmogne MA, Tchegnitegni BT, Bitchagno GT, Awantu AF, *et al.* Chemical constituents from *Baphia leptobotrys* Harms (Fabaceae) and their chemophenetic significance. *Biochem Syst Ecol*. 2021;96:104260. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bse.2021.104260>
57. Sarkar D, De Sarkar S, Gille L, Chatterjee M. Ascaridole exerts the leishmanicidal activity by inhibiting parasite glycolysis. *Phytomed*. 2022;103:154221. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2022.154221>
58. Monzote L, García M, Pastor J, Gille L, Scull R, Maes L, *et al.* Essential oil from *Chenopodium ambrosioides* and main components: activity against *Leishmania*, their mitochondria and other microorganisms. *Exp Parasitol*. 2013;136:20-6. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2013.10.007>
59. Monzote L, Pastor J, Scull R, Gille L. Antileishmanial activity of essential oil from *Chenopodium ambrosioides* and its main components against experimental cutaneous leishmaniasis in BALB/c mice. *Phytomed*. 2014;21:1048-52. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.phymed.2014.03.002>
60. Machín L, Alcantar J, Lars G, Monzote L. Oral and intralesional efficacy of ascaridole in BALB/c and C57BL/6 mice infected with *Leishmania amazonensis*. *Rev Cub Farm*. 2022 [acceso 03/12/2022];55(4):e793. Disponible en: <https://revfarmacia.sld.cu/index.php/far/article/view/793>
61. Monzote L, Geroldinger G, Tonner M, Scull R, De SS, Bergmann S, *et al.* Interaction of ascaridole, carvacrol, and caryophyllene oxide from essential oil of *Chenopodium ambrosioides* L. with mitochondria in *Leishmania* and other eukaryotes. *Phytother Res*. 2018;32(9):17291740. DOI: <https://doi.org/10.1002/ptr.6097>
62. Alexandre TR, Lima ML, Galuppo MK, Mesquita JT, do Nascimento MA, dos Santos AL, *et al.* Ergosterol isolated from the basidiomycete *Pleurotus*

- salmonostramineus* affects *Trypanosoma cruzi* plasma membrane and mitochondria. J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis. 2017;23:30. DOI: <http://doi.org/10.1186/s40409-017-0120-0>
63. Meza L, Ramos A, López A, Limón A, Kaluzhskiy LA, Shkel TV, *et al.* Insights into ergosterol peroxide's trypanocidal activity. Biomolecules. 2019;9(9):484. DOI: <https://doi.org/10.3390/biom9090484>
64. Torres I, López JL, Muñoz M, Rodríguez I, Álvarez M. Marine terpenic endoperoxides. Mar Drugs. 2021;19(12):661. DOI: <https://doi.org/10.3390/md19120661>
65. Vil VA, Glorizova TA, Dembitsky VM. Peroxy steroids derived from plant and fungi and their biological activities. Appl Microbiol Biotechnol. 2018;102(18):7657-67. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9211-2>
66. Ma L, Wang H, Wang J, Liu L, Zhang S, Bu M. Novel steroidal 5 $\alpha$ ,8 $\alpha$ -endoperoxide derivatives with semicarbazone/thiosemicarbazone side-chain as apoptotic inducers through an intrinsic apoptosis pathway: design, synthesis and biological studies. Molecules. 2020; 25(5):1209. DOI: <http://doi.org/10.3390/molecules25051209>
67. Lenzi J, Costa TM, Alberton MD, Greinert JA, Tavares LB. Medicinal fungi: a source of antiparasitic secondary metabolites. App Microbiol Biotechnol. 2018;102(14):5791-810. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9048-8>
68. Fudickar W, Linker T. Reversible photooxygenation of alkynylantracenes: Chemical generation of singlet oxygen under very mild conditions. Chem Eur J. 2011;17(49):13661-4. DOI: <https://doi.org/10.1002/chem.201102230>
69. Klaper M, Wessig P, Linker T. Base catalysed decomposition of anthracene endoperoxide. Chem Commun. 2016;52:1210-3. DOI: <https://doi.org/10.1039/C5CC08606J>
70. Geroldinger G, Tonner M, Fudickar W, De Sarkar S, Dighal A, Monzote L, *et al.* Activation of anthracene endoperoxides in *Leishmania* and impairment of mitochondrial functions. Molecules. 2018;23(7):1680. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules23071680>
71. Machín L, Piontek M, Todhe S, Staniek K, Monzote L, Fudickar W, *et al.* Antileishmanial anthracene endoperoxides: Efficacy *in vitro*, mechanisms and

- structure-activity relationships. *Molecules*. 2022;27(20):6846. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules27206846>
72. Ortalli M, Varani S, C. Rosso A, Quintavalla M, Lombardo C, Trombini, Evaluation of synthetic substituted 1,2-dioxanes as novel agents against human leishmaniasis. *Eur J Med Chem*. 2019;170:126-140. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.02.070>
73. Ortalli M, Varani S, Cimato G, Veronesi R, Quintavalla A, Lombardo M, *et al*. Evaluation of the pharmacophoric role of the O–O bond in synthetic antileishmanial compounds: comparison between 1,2 dioxanes and tetrahydropyrans. *J Med Chem*. 2020.63(21):13140-58. DOI: <https://dx.doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c01589>
74. Mendes A, Armada A, Cabral LI, Amado PS, Campino L, Cristiano ML, *et al*. 1,2,4-trioxolane and 1,2,4,5-tetraoxane endoperoxides against Old-World *Leishmania* parasites: *In vitro* activity and mode of action. *Pharmaceuticals*. 2022;15(4):446. DOI: <https://doi.org/10.3390/ph15040446>
75. Cabral LI, Pomel S, Cojean S, Amado PS, Loiseau PM, Cristiano ML. Synthesis and antileishmanial activity of 1,2,4,5-tetraoxanes against *Leishmania donovani*. *Molecules*. 2020;25(3):465. DOI: <http://doi.org/10.3390/molecules25030465>
76. Antolínez IV, Barbosa LC, Borgati TF, Baldaia A, Ferreira SR, Almeida RM, *et al*. Tetraoxanes as new agents against *Leishmania amazonensis*. *Chem Biodiver*. 2020;17(6):e2000142. DOI: <https://doi.org/10.1002/cbdv.202000142>
77. Kwofie KD, Sato K, Sanjoba C, Hino A, Shimogawara R, Amoa-Bosompem M, *et al*. Oral activity of the antimalarial endoperoxide 6-(1,2,6,7-tetraoxaspiro[7.11]nonadec-4-yl)hexan-1-ol (N-251) against *Leishmania donovani* complex. *PLoS Negl Trop Dis*. 2019;13(3):e0007235. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007235>
78. Avery MA, Muraleedharan KM, Desai PV, Bandyopadhyaya AK, Furtado MM, Tekwan BL. Structure-activity relationships of the antimalarial agent artemisinin. 8. Design, synthesis, and CoMFA studies toward the development of artemisinin-based drugs against leishmaniasis and malaria, *J Med Chem*. 2003;46:4244-58. DOI: <https://doi.org/10.1021/jm030181q>

79. Mukanganyama S, Naik YS, Widersten M, Mannervik B, Hasler JA. Proposed reductive metabolism of artemisinin by glutathione transferases *in vitro*. Free Radic Res. 2001;35(4):427-34. DOI: <https://doi.org/10.1080/10715760100300941>
80. Creek DJ, Ryan E, Charman WN, Chiu FC, Prankerd RJ, Vennerstrom JL, *et al*. Stability of peroxide antimalarials in the presence of human hemoglobin. Antimicrob Agents Chemother. 2009;53(8):3496-500. DOI: <https://doi.org/10.1128/AAC.00363-09>
81. Silveira N, Saar J, Santos AD, Barison A, Sandjo LP, Kaiser M, *et al*. A new alkamide with an endoperoxide structure from *Acmella ciliata* (Asteraceae) and its *in vitro* antiplasmodial activity. Molecules. 2016;21(6):765. DOI: <http://doi.org/10.3390/molecules21060765>
82. Capela R, Magalhães J, Miranda D, Machado M, Sanches M, Albuquerque IS, *et al*. Endoperoxide-8-aminoquinoline hybrids as dual-stage antimalarial agents with enhanced metabolic stability. Eur J Med Chem. 2018;149:69-78. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.02.048>
83. Dushime R, Zhu Y, Wu H, Saez D, Shukla K, Biavatti M, *et al*. Discovery of spilanthol endoperoxide as a redox natural compound active against mammalian Prx3 and *Chlamydia trachomatis* infection. Antioxidants. 2020;9(12):1220. DOI: <http://doi.org/10.3390/antiox9121220>
84. Atolani O, Sulaiman FA, Hamid AA, Alayo A, Akina AC, Oloriegbe S, *et al*. In pursuit of new anti-malarial candidates: novel synthesized and characterized pyrano-benzodioxepin analogues attenuated *Plasmodium berghei* replication in malaria-infected mice. Heliyon. 2021;7(12):e08517. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e08517>

### Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen conflicto de intereses.