



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DA BAHIA**  
**CENTRO DAS CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE**  
**CURSO DE MEDICINA**

**JULIANA CHAVES ARAÚJO**

**ANÁLISE DA ATIVIDADE LEISHMANICIDA DE NANOPARTÍCULAS DE  
LAPACHOL EM PROMASTIGOTAS DE PARASITOS DA ESPÉCIE DE  
*LEISHMANIA AMAZONENSIS***

**BARREIRAS**

**2025**

JULIANA CHAVES ARAÚJO

**ANÁLISE DA ATIVIDADE LEISHMANICIDA DE NANOPARTÍCULAS DE  
LAPACHOL EM PROMASTIGOTAS DE PARASITOS DA ESPÉCIE DE  
*LEISHMANIA AMAZONENSIS***

Trabalho de Conclusão de Curso,  
apresentado como requisito para obtenção  
do título de Bacharel em Medicina do  
Centro das Ciências Biológicas e da Saúde  
da Universidade Federal do Oeste da  
Bahia.

Orientador: Prof. Dr. Jonilson Berlink Lima

BARREIRAS

2025

## FICHA CATALOGRÁFICA

---

A663 Araújo, Juliana Chaves.

Análise da atividade leishmanicida de nanopartículas de lapachol em promastigotas de parasitos da espécie de leishmania amazonensis. / Juliana Chaves Araújo. – 2025.

37f.

Orientador: Prof. Dr. Jonilson Berlink Lima.

Monografia (Graduação) – Bacharelado em Medicina. Universidade Federal do Oeste da Bahia. Centro das Ciências Biológicas e da Saúde. Barreiras, BA, 2025.

1. Leishmania. 2. Lapachol. 3. Produtos naturais. 4. Nanopartículas. I. Lima, Jonilson Berlink. II. Universidade Federal do Oeste da Bahia - Centro das Ciências Biológicas e da Saúde. III. Título.

CDD 610

---



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DA BAHIA**  
Centro das Ciências Biológicas e da Saúde  
Curso de Medicina

**ATA DE DEFESA PÚBLICA DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

Aos 24 dias do mês de fevereiro de 2025, às 12 horas, em sessão pública, na sala virtual do aplicativo *Google Meet*, na presença da Banca Examinadora presidida pelo Prof Dr. Jonilson Berlink Lima e composta pelos examinadores: Prof. Me. Fernando do Prado Vieira (Avaliador 1) e Prof. Esp. Hortência Aparecida dos Reis Santana (Avaliador 2), a aluna Juliana Chaves Araújo apresentou o Trabalho de Conclusão de Curso intitulado: "Análise da atividade leishmanicida de nanopartículas de lapachol em promastigotas de parasitos da espécie de *Leishmania amazonensis*", como requisito curricular indispensável para a integralização do Curso de Bacharelado em Medicina. Após reunião em sessão reservada, a Banca Examinadora deliberou e decidiu pela **APROVAÇÃO** com nota **9,5** do referido trabalho, divulgando o resultado formalmente à aluna e demais presentes e, na qualidade de presidente da banca, lavrei a presente ata que será assinada por mim e pelos demais examinadores.

Presidente da Banca e Orientador Prof Dr. Jonilson Berlink Lima  
UFOB - Universidade Federal do Oeste da Bahia

Avaliador 1: Prof. Me. Fernando do Prado Vieira  
UFOB - Universidade Federal do Oeste da Bahia



Documento assinado digitalmente  
HORTENCIA APARECIDA DOS REIS SANTANA  
Data: 27/02/2025 15:37:29-0300  
Verifique em <https://validar.itf.gov.br>

Avaliador 2: Prof. Esp. Hortência Aparecida dos Reis Santana  
UFOB - Universidade Federal do Oeste da Bahia

Dedico esse trabalho à minha mãe, sem a qual eu não teria mudado a trajetória da minha vida e chegado à Bahia para realizar um sonho, na construção e busca por felicidade.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço à minha família: mãe, pai, irmã, irmão, padrasto e meu cachorro Tommy, que são minha base, meus pilares, tudo nessa trajetória envolveu vocês, seja no amor, seja na saudade, mas principalmente na força para continuar numa jornada distante do conforto do lar e do acolhimento físico de vocês. Obrigada por me apoiarem sempre, cada um à sua maneira.

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Jonilson Berlink Lima pela possibilidade de realizar esse projeto, de aprender sobre pesquisa, uma das bases fundamentais da saúde que precisa resistir.

Agradeço ao Pedro Macedo, por ter me convidado a ser sua parceira nessa pesquisa, que me abriu portas para conhecimentos para além da grade do curso.

Agradeço a Leci França, por ter sido uma companheira de pesquisa atenciosa, divertida, paciente e disposta.

Agradeço à minha psicóloga, Domenica Melo, por toda semana me ajudar a compreender sobre mim mesma e sobre como posso melhorar.

Às minhas amigas Gabriele Barros e Marcela Camilotti, que fazem minha morada em Barreiras ser melhor, por me apoiarem e incentivarem.

Por fim, agradeço aos trabalhadores da recepção Paulo e Cida, por serem luz no estabelecimento da faculdade, as idas ao laboratório em que precisava pegar a chave nos aproximaram. Chegar na faculdade e poder conversar com vocês, faz toda diferença no meu dia.

*“Eu sou feita e refeita  
continuamente” (Virginia Woolf)*

## RESUMO

**Introdução:** A leishmaniose é um problema de saúde pública mundial, com grande prevalência nas Américas e significativa negligência. Ela é endêmica no Brasil e o protozoário causador *Leishmania amazonensis* é uma das espécies principais que causam a forma clínica cutânea. As medicações atualmente protocoladas tem grande potencial tóxico, com efeitos adversos importantes. O lapachol e seus derivados são uma opção terapêutica natural e com menor danos clínicos, podendo ser manipulado em formulações melhoradas, como nanopartículas. **Objetivos:** Avaliar a atividade leishmanicida de nanopartículas de lapachol em promastigotas de parasitas do gênero *Leishmania amazonensis*, bem como a viabilidade das células tratadas e a morte celular. **Métodos:** Trata-se de um estudo experimental controlado, em que uma cultura de cepas de promastigotas de *L. amazonensis* foi cultivada para realização de ensaios in vitro com nanopartículas de lapachol, envolvendo as etapas de análise de curva de crescimento, viabilidade celular e morte celular. **Resultados:** Houve uma significativa redução do crescimento populacional de promastigotas tratados com as nanopartículas e menor no lapachol puro. No teste de viabilidade celular, todas as drogas testadas também mostraram decréscimo populacional. Já no ensaio de morte celular, destacou-se o efeito leishmanioestático sobre a atividade leishmanicida. **Conclusão:** Usar alternativas naturais com menos efeitos adversos é uma vantagem que nanopartículas de lapachol pode oferecer, uma vez que os resultados in vitro foram promissores.

**Palavras-chave:** Leishmania, Lapachol, Produtos naturais, Nanopartículas

## ABSTRACT

**Introduction:** Leishmaniasis is a global public health problem, with high prevalence in the Americas and significant neglect. It is endemic in Brazil and the protozoan that causes it, *Leishmania amazonensis*, is one of the main species that causes the clinical cutaneous form. The medications currently prescribed have great toxic potential, with significant adverse effects. Lapachol and its derivatives are a natural therapeutic option with less clinical damage, and can be manipulated in improved formulations, such as nanoparticles. **Objectives:** To evaluate the leishmanicidal activity of lapachol nanoparticles in promastigotes of parasites of the genus *Leishmania amazonensis*, as well as the viability of the treated cells and cell death. **Methods:** This is a controlled experimental study, in which a culture of *L. amazonensis* promastigote strains was cultivated to perform in vitro assays with lapachol nanoparticles, involving the steps of growth curve analysis, cell viability and cell death. **Results:** There was a significant reduction in the population growth of promastigotes treated with nanoparticles and less in pure lapachol. In the cell viability test, all drugs tested also showed a decrease in population. In the cell death test, the leishmaniastatic effect on leishmanicidal activity stood out. **Conclusion:** Using natural alternatives with fewer adverse effects is an advantage that lapachol nanoparticles can offer, since the in vitro results were promising.

**Keywords:** Leishmania, Lapachol, Natural products, Nanoparticles

## LISTA DE ABREVIATURAS

- OMS – Organização Mundial de Saúde  
OPAS – Organização Pan Americana de Saúde  
*Spp.* – Várias espécies  
LC – Leishmaniose Cutânea  
*L.* – *Leishmania*  
LMC – leishmaniose mucocutânea  
LCD – Leishmaniose Cutânea Difusa  
LV – Leishmaniose Visceral  
ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária  
SUS – Sistema Único de Saúde  
L50 – Formulação 1 de nanopartícula de lapachol  
L90 – Formulação 1 de nanopartícula de lapachol  
SBF – Soro Bovino Fetal  
BOD – Demanda Bioquímica de Oxigênio

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura molecular do lapachol .....	16
Figura 2. Desenho do estudo .....	20
Figura 3. Curva de crescimento de promastigotas de <i>L. amazonensis</i> em diferentes concentrações livres em meio de cultura .....	24
Figura 4. Curva de crescimento de promastigotas sob estímulo de lapachol e nanopartículas de lapachol .....	25
Figura 5. Ensaio de viabilidade celular <i>in vitro</i> com promastigotas de <i>L. amazonensis</i> .....	26
Figura 6. Estudo de morte celular <i>in vitro</i> com promastigotas de <i>L. amazonensis</i> ....	27

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>11</b>
<b>1.1 Referencial teórico</b> .....	<b>11</b>
1.1.1 Aspectos taxonômicos do protozoário <i>Leishmania spp.</i> .....	11
1.1.2 Formas morfológicas do parasito .....	12
1.1.3 Variedades clínicas .....	12
1.1.4 Formas terapêuticas sistêmicas .....	13
1.1.4.1 Antimoniato de meglumina .....	14
1.1.4.2 Anfotericina B .....	14
1.1.4.3 Anfotericina B lipossomal .....	15
1.1.4.3 Pentamidinas .....	15
1.1.4.4 Lapachol como nova forma terapêutica no tratamento das leishmanioses .....	16
<b>1.2 Problema</b> .....	<b>17</b>
<b>1.3 Hipótese</b> .....	<b>17</b>
<b>2 JUSTIFICATIVA</b> .....	<b>18</b>
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	<b>19</b>
<b>3.1 Objetivo Geral</b> .....	<b>19</b>
<b>3.2 Objetivos Específicos</b> .....	<b>19</b>
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>20</b>
<b>4.1 Tipo de estudo</b> .....	<b>20</b>
<b>4.2 Local</b> .....	<b>20</b>
<b>4.3 Delineamento</b> .....	<b>20</b>
4.3.1 Produtos químicos e reagentes .....	20
4.1.2 Cultivo de parasitas .....	21
4.1.3 Ensaio <i>in vitro</i> .....	21
4.1.3.1 Curva de crescimento das formas promastigotas .....	21
4.1.3.2 Viabilidade dos promastigotas .....	22
4.1.3.3 Ensaio de morte celular com brometo de etídio .....	23
<b>5 RESULTADOS</b> .....	<b>24</b>
<b>5.1 Curva de crescimento</b> .....	<b>24</b>
<b>5.2 Ensaio de viabilidade das formas promastigotas</b> .....	<b>26</b>
<b>5.3 Ensaio de morte celular com brometo de etídio</b> .....	<b>27</b>
<b>6 DISCUSSÃO</b> .....	<b>29</b>
<b>7 CONCLUSÃO</b> .....	<b>32</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>33</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A leishmaniose é uma doença considerada um problema de saúde pública. A Organização Mundial de Saúde (OMS) a coloca como uma das seis doenças infecciosas mais importantes no mundo, devido ao alto coeficiente de detecção e capacidade de gerar deformidades (Brasil, 2017).

Ela é uma doença predominantemente de países tropicais e está relacionada a diversas condições, tais como a pobreza, a má nutrição, as más condições de habitação e a baixa resposta imunológica do hospedeiro vertebrado (OMS, 2023). Ademais, de acordo com dados de 2019 da OMS, a leishmaniose pertence à lista das 20 doenças tropicais mais negligenciadas pelos sistemas de saúde globais (OMS, 2023), apesar de seu caráter de notificação compulsória no Brasil, o cenário não é diferente (Brasil, 2017).

O Brasil, assim como a maior parte do continente americano, é considerado endêmico para essa patologia, com cerca de 12.910 casos reportados de leishmaniose em sua forma tegumentar e 1.461 casos reportados de leishmaniose visceral (OPAS, 2024)

No Brasil, já foram reportadas 7 das 12 espécies reconhecidas hodiernamente nas Américas, sendo que as espécies *Leishmania braziliensis*, *Leishmania guyanensis* e *Leishmania amazonensis* são as 3 principais causadoras da forma tegumentar (BRASIL, 2017) e a *Leishmania infantum* a principal causadora da forma visceral (BRASIL, 2011).

### 1.1 Referencial teórico

#### 1.1.1 Aspectos taxonômicos do protozoário *Leishmania spp.*

A leishmaniose é uma infecção causada por protozoários intracelulares obrigatórios do gênero *Leishmania spp*, o qual compreende mais de 21 espécies patogênicas para os humanos já registradas taxonomicamente e que são transmitidas pela picada das fêmeas de mosquitos hematófagos da subfamília *Phlebotominae*, sendo *Lutzomyia* o gênero mais frequente do microrganismo (Brasil, 2017).

A primeira descrição microbiológica sobre os parasitos do gênero *Leishmania* foi realizada por William Leishman e Charles Donovan no ano de 1903, sua

classificação dentro do reino *Protozoa* e do gênero *Leishmania* foi proposta por James Wright em 1903 (Vannier-Santos; Martiny; De Souza, 2002).

### **1.1.2 Formas morfológicas do parasito**

O gênero *Leishmania spp.* agrupa protozoários unicelulares, com ciclo de vida heteroxeno, isto é, que envolve pelo menos dois hospedeiros. São encontrados nas formas promastigota, os quais são normalmente flagelados e livres ou aderidos ao trato digestivo dos hospedeiros invertebrados, e amastigota, que são sem flagelos e parasitos intracelulares (Neves, et al, 2013). Sua forma promastigota infectante está no mosquito hematófago do gênero *Luzomyia* e ao serem inoculados no sangue do hospedeiro vertebrado, interage com macrófagos adentrando seu interior e se diferenciando nas formas amastigotas (Rodrigues; Godinho; de Souza, 2014).

### **1.1.3 Variedades clínicas**

A leishmaniose humana apresenta duas formas clínicas: tegumentar e visceral. Tais variações são vastamente disseminadas na América Latina, na qual o Brasil prima a notificação de casos (Ferreira; Dietze, 2023).

A leishmaniose cutânea (LC) é uma das apresentações clínicas da infecção por diversas espécies de *Leishmania*. No Brasil, são mais comuns a *L. guyanensis*, *L. braziliensis* e *L. amazonensis* (Murback. et al, 2011).

Sua clínica é caracterizada por lesões únicas ou difusas, por vezes indolores e raramente purulentas, que se localizam, na maior parte dos casos, em áreas do corpo expostas, como as extremidades e face, além de poderem apresentar úlceras ou nódulos (Aronson; Joya, 2019). Ela é diagnóstico diferencial de afecções dermatológicas e sua magnitude a faz de suma importância pelo impacto físico, psicológico, social e econômico, este último por estar relacionada ao ambiente de trabalho, se portando como uma doença ocupacional (Brasil, 2017).

A forma clínica mais prevalente no Brasil é LC (OPAS, 2024) e existe uma variação de sua apresentação que é a leishmaniose mucocutânea (LMC), a qual pode coexistir com a forma cutânea ou aparecer após sua resolução, inclusive após anos. As lesões aparecem na forma ulcerada, podendo ser desfigurante, acometendo majoritariamente as mucosas nasal, oral, o que pode levar a extensão até a orofaringe

e laringe, com possibilidade de lesionar cartilagens e pregas vocais (Abadías-Granado, et al., 2021).

Outra variação da LC é a Leishmaniose Cutânea Difusa (LCD). No Brasil, é ocasionada exclusivamente pela espécie *Leishmania amazonensis* que, apesar de rara, é muito grave, tem elevada destruição do tecido lesionado e uma resposta difícil tanto no tratamento, quanto na cura clínica, dada a anergia celular do sistema imune, com predominância de resposta do tipo 2, o que leva a uma multiplicação descontrolada do parasita, logo, a um grande parasitismo encontrado nas lesões (Brasil, 2017)

Já a leishmaniose visceral (LV), tem uma apresentação que se dá por sinais e sintomas multissistêmicos, como febre irregular com longa duração, linfadenopatia, emagrecimento, edema, hepatoesplenomegalia, anemia com leucopenia associada, hipoalbuminemia, hipergamaglobulinemia e estado progressivo de deterioração do estado geral, podendo levar à caquexia e, em condições extremas, ao óbito (De Alvarenga et al, 2010).

#### **1.1.4 Formas terapêuticas sistêmicas**

Os medicamentos atuais que são aprovados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e pelos protocolos de tratamento das diferentes formas clínicas da leishmaniose são tóxicos, logo, podem apresentar eventos adversos ao paciente. Nesse sentido, a escolha da droga a ser utilizada deverá ser balizada por parâmetros como a presença ou não de gravidez, doença cardíaca ou renal de base, além do perfil de toxicidade da droga (Pradhan, *et al.*, 2022).

Além disso, não há uma terapia considerada universal para essa doença, já que as drogas podem provocar efeitos tóxicos nos pacientes, de forma que a avaliação decisória para terapia de escolha deve ser individualizada, considerando aspectos como o estado de saúde, a natureza da infecção, risco de complicações metastáticas, além do desejo do paciente (Aronson; Joya, 2019).

##### **1.1.4.1 Antimoniato de meglumina**

Os antimoniais pentavalentes são as drogas consideradas leishmanicidas e de primeira escolha no tratamento das leishmanioses. O antimoniato de N-meglumina é

comercializado no Brasil e está disponível no Sistema Único de Saúde (SUS). Dentre seus efeitos adversos, destaca-se, principalmente, o distúrbio de repolarização do aparelho cardiovascular, ocasionando arritmias. Esse efeito adverso é dose-dependente e, por isso, é preconizada a realização de eletrocardiogramas semanais e ausculta cardíaca diárias até o fim da medicação e sempre antes de cada infusão, com o intuito de detectar possíveis arritmias. Assim, é imprescindível a avaliação criteriosa do médico, podendo ser suspensa ou substituída (Brasil, 2017).

Cabe mencionar, ainda, a presença de outros efeitos adversos dos antimoniais, em ordem de prevalência, como artralgias, mialgia, anorexia, náuseas, vômitos, plenitude gástrica, epigastralgia, pirose, dor abdominal, pancreatite, prurido, febre, astenia, cefaleia, tontura, insônia, edema e lesão renal aguda. Essas queixas, na maior parte dos casos, cursam com discricção e raramente exigem a suspensão da medicação. Contudo, em dose de 20mg/kg/dia, o antimonial pode atingir o limiar de toxicidade, podendo causar as alterações cardíacas supracitadas, renais ou pancreáticas fazendo com que seja imperativa a suspensão do tratamento (Brasil, 2017).

#### **1.1.4.2 Anfotericina B**

O fármaco desoxicolato de anfotericina B é um antibiótico com importante atividade de destruição *in vitro* de *Leishmania* intra e extracelular, sendo a primeira droga de escolha em gestantes e de segunda escolha em casos refratários ao tratamento com antimonial ou quando não há possibilidade do uso deste. O SUS disponibiliza essa droga. No que se refere aos seus efeitos adversos, incluem: comprometimento de função renal, hipomagnesemia, distúrbios de comportamento, vômitos, anorexia, tremores, calafrios, flebite, cianose, hipotensão, febre, cefaleia e náuseas (Brasil, 2017).

#### **1.1.4.3 Anfotericina B lipossomal**

A anfotericina B lipossomal é uma formulação mais recente do medicamento supracitado em que a droga atinge níveis plasmáticos mais elevados que o desoxicolato de anfotericina B, apesar de possuir tempo de meia-vida mais curto. No Brasil, essa droga é recomendada para o tratamento da LV, sendo utilizada *off label*

em casos de LC em que as demais opções terapêuticas tenham tido insucesso ou contraindicações. É dispensada pelo SUS. Dentre as reações adversas mais comuns estão febre, tremores e calafrios. Em estudos, a nefrotoxicidade deste medicamento foi aproximadamente a metade daquela ocasionada pelos complexos lipídicos de anfotericina B. Essa forma medicamentosa tem nível A de evidência (Brasil, 2017).

#### **1.1.4.3 Pentamidinas**

Esse quarto grupo de drogas são diaminas aromáticas que têm sido utilizadas como segunda escolha no tratamento de LC em áreas endêmicas dos continentes americano, asiático e africano. Seu mecanismo de ação é baseado na interferência no metabolismo de glicose, podendo, assim, causar hipoglicemia seguida de hiperglicemia após o seu uso (Brasil, 2017).

Em relação aos seus efeitos adversos, foi-se observada, principalmente, citólise de células beta pancreáticas acarretadas por esse grupo de medicamentos, causando, conseqüentemente, diabetes mellitus tipo 2. O efeito diabético é dose dependente. Além disso, dor, induração e abscessos estéreis no local da aplicação, bem como hipotensão, lipotimia, síncope, náuseas, vômitos, tontura, adinamia, mialgias, cefaleia. Além disso, pode desencadear reações graves como pancreatite, arritmias cardíacas, leucopenia, trombocitopenia, insuficiência renal aguda, hipocalcemia e taquicardia ventricular e choque anafilático. pancreatite, arritmias cardíacas, leucopenia, trombocitopenia, insuficiência renal aguda, hipocalcemia e taquicardia ventricular e choque anafilático (Brasil, 2017).

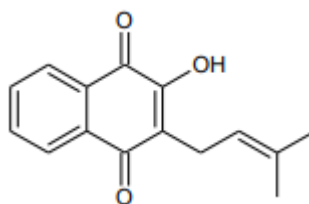
#### **1.1.4.4 Lapachol como nova forma terapêutica no tratamento das leishmanioses**

Diante das implicações clínicas decorrentes dos tratamentos atuais para as leishmanioses, tais como sua toxicidade sistêmica visualizada clinicamente por efeitos adversos importantes, busca-se alternativas terapêuticas aos antiparasitários leishmanicidas.

Nesse sentido, surgem os estudos sobre o lapachol, que são moléculas do grupo das naftoquinonas, as quais estão contidas na família de plantas *Bignoniaceae* e que pode ser extraído de plantas do gênero *Handroanthus spp.* Assim, ela é vista

como novo possível composto a ser utilizado no tratamento das leishmanioses (Araújo, et al., 2019).

**Figura 1. Estrutura molecular do lapachol**



Fonte: Silva, 2019

As naftoquinonas, por sua vez, são um grupo dentro da esfera das quinonas e seus derivados têm sido utilizados cada vez mais em estudos por conta de seu espectro de atuação variado em terapêuticas medicamentosas alternativas, atuando como compostos com biopotencial de tratamento de parasitoses, como a leishmaniose, doença de Chagas (Peixoto, *et al.*, 2021) e esquistossomose (Teixeira, *et al.*, 2001).

No que concerne a *Leishmania spp*, a ação dos derivados das quinonas sobre os seus alvos moleculares está concatenada à estrutura tridimensional das moléculas, os mecanismos relacionados à atividade leishmanicida dessas substâncias ainda não estão totalmente esclarecidos. Porém, já foi verificado que o lapachol provocou danos no complexo de Golgi e bolsa flagelar do protozoário, com geração de vesículas e perfil de autofagia, além de levar a modificações ultraestruturais nas mitocôndrias da forma promastigota (Tunes, 2015).

Ademais, já é de conhecimento que as quinonas, e seus derivados, têm efeitos sobre o metabolismo celular, participando do ciclo reações de oxirredução que culminam na formação de espécies reativas de oxigênio (EROs), as quais causam danos celulares por estresse oxidativo (Peixoto, et al., 2021).

Além disso, estudos também revelam que as quinonas, e seus derivados, também possuem potencial efeito tóxico sobre o DNA, interagindo com processos de alquilação do material genético e com topoisomerasas – enzimas que estão envolvidas no processo de duplicação do DNA (Peixoto, et al., 2021).

O lapachol, uma das moléculas bioativas do grupo das naftoquinonas, foi testado, inicialmente, na década de 40 do século XX como agente antimalárico (Teixeira, et al., 2001) e, ao longo das décadas subsequentes, tem sido comprovada

sua ação antiviral, anti-inflamatória, analgésica, anti-tumoral, anti-metastática, fungicida, antioxidante e antimicrobiana (Milaré, 2018).

Alguns estudos já comprovaram que as quinolonas e seus derivados possuem atividade anti-leishmania, bem como baixa toxicidade celular a macrófagos (Alves, 2022). As formulações de lapachol e de seu derivado  $\beta$ -lapachol promoveram a morte de promastigotas da *L. amazonensis*, bem como apresentaram baixa citotoxicidade para macrófagos e para eritrócitos humanos em estudo *in vitro* (Milaré, 2018).

Em conjunto a isso, as altas concentrações de lapachol e de  $\beta$ -lapachol utilizadas causaram cerca de menos de 6% de hemólise, valor esse considerado positivo quando comparado aos níveis de hemólise após o tratamento com anfotericina B, cuja taxa de hemólise é de cerca de 50% em dose de 50 $\mu$ g/mL (Milaré, 2018).

No que tange a nanotecnologia, ela é um campo de saber e envolve a associação de ciência, engenharia e tecnologia, no qual substâncias são produzidas em nanoescala, entre 1 e 100 nm, o que propicia melhora nas propriedades baseado na alta razão entre área de superfície/volume (Mulvaney, 2015). Ou seja, o material resultante mantém sua composição, o que muda é o tamanho e o efeito que ele provoca.

Nesse sentido, essa característica diferencial pautada no tamanho das partículas leva a melhor eficiência, propiciando uma liberação mais controlada, conservando a concentração a nível terapêutico contrariamente à liberação imediata (Apolinário, et al, 2020).

## **1.2 Problema**

As nanopartículas de lapachol possuem atividade leishmanicida contra promastigotas de parasitos do gênero *Leishmania amazonensis*?

## **1.3 Hipótese**

O lapachol e as nanopartículas de lapachol têm efeito redutor no crescimento da população de espécimes de *L. amazonensis*, bem como causa a morte celular dos protozoários em sua forma promastigota.

## 2 JUSTIFICATIVA

A leishmaniose é uma zoonose endêmica de países tropicais como o Brasil e se encontra no escopo das doenças negligenciadas de acordo com a Organização Mundial da Saúde, bem como é uma doença de notificação compulsória dentro do âmbito do SUS (Brasil, 2017).

Embora seja uma entidade única, é causada por diversas espécies do protozoário do gênero *Leishmania spp*, transmitido pela picada de mosquitos hematófagos flebotomíneos, além de possuir formas diferentes de apresentação clínica, sendo a tegumentar a mais comum no Brasil e responsável por ser um diagnóstico diferencial importante de doenças ulcerosas de pele em regiões endêmicas, como o Nordeste (OPAS, 2022)

O tratamento padrão da leishmaniose no Brasil, hodiernamente, é feito tendo os antimoniais pentavalentes como primeira escolha e a anfotericina B como segunda escolha (Brasil, 2017). Entretanto, apesar de serem tratamentos eficazes devido a sua atividade leishmanicida, possuem toxicidade sistêmica importante e baixa tolerabilidade, o que implica ao fomento de estudos que busquem alternativas terapêuticas mais seguras e também eficazes no combate à leishmaniose (Milaré, 2015).

Dessa forma, o presente estudo, pautado em estudos já publicados na literatura, busca ampliar a discussão acerca do potencial leishmanicida de nanopartículas de lapachol, uma nova formulação derivada do lapachol, sobre a espécie de *Leishmania amazonensis* como forma de alternativa terapêutica tópica, baseada em um produto natural e mais seguro, no que tange a toxicidade.

Ressalta-se que a proposta do composto natural em estudo é de administração tópica, logo, voltado ao tratamento da Leishmaniose Cutânea/Tegumentar, além da espécie selecionada para os ensaios ter significância epidemiológica no Brasil, atingindo todas as suas regiões, e demais países da América (OPAS, 2024).

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

Avaliar a atividade leishmanicida de nanopartículas de lapachol em promastigotas de parasitas do gênero *Leishmania amazonensis*.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

- Examinar a atividade leishmanicida das nanopartículas contra formas promastigotas de parasitas de *L. amazonensis*;
- Averiguar a viabilidade das formas promastigotas de *L. amazonensis* tratadas ou não com lapachol e nanopartículas de lapachol;
- Analisar a morte celular de *L. amazonensis* tratadas ou não com lapachol e nanopartículas de lapachol

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Tipo de estudo

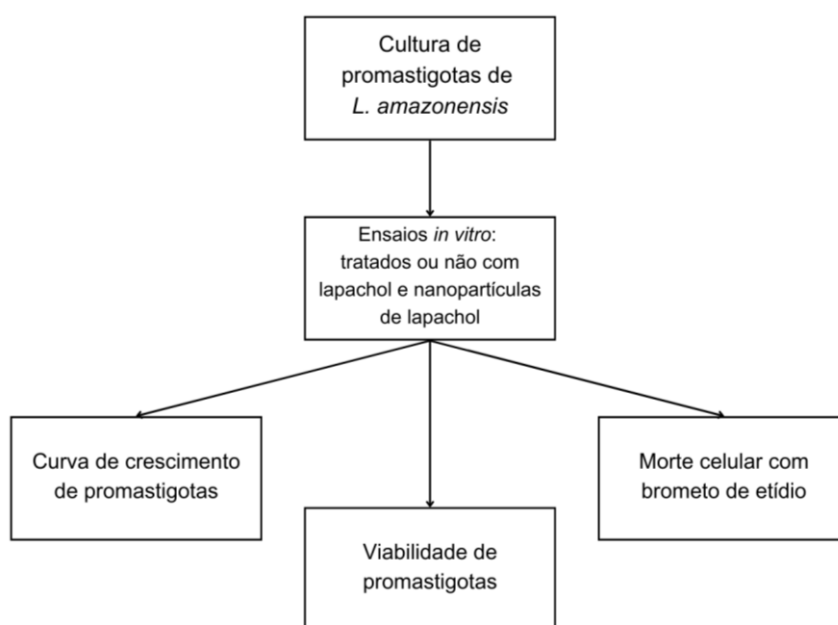
Trata-se de um estudo experimental controlado.

### 4.2 Local

Todas as preparações, ensaios e análises foram realizados no Laboratório de Imunologia da Universidade Federal do Oeste da Bahia.

### 4.3 Delineamento

Figura 2. Desenho do estudo



Fonte: Elaborada pela autora

#### 4.3.1 Produtos químicos e reagentes

As formulações avaliadas no estudo foram o lapachol [2-hidroxi-3-(3-metil-2-butenil)-1,4-naftoquinona] na concentração de 0,05g/mL e nanopartículas de lapachol: Formulação 1 (L50) e Formulação 2 (L90) nas concentrações de 0,05g/mL, ambos

fornecidos pelo laboratório de imunologia da Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA).

Em adição, foram utilizados ainda meio de cultura Meio Schneider (Sigma, St Louis, MD, EUA); Soro Bovino Fetal (SBF) (Cripion, Andradina, SP, Brasil, lote 20650); L-glutamina (Sigma); penicilina G (Sigma-Aldrichs, EUA); estreptomicina (Sigma-Aldrichs); formalina 2%, brometo de etídio (EtBr) (Invitrogen™ UltraPure™ Ethidium Bromide, 10 mg/mL)

#### **4.1.2 Cultivo de parasitas**

A forma morfológica estudada são os promastigotas da espécie *L. amazonensis*, derivadas da cepa MHOM/BR/1987/BA125, obtidos por meio da parceria com o Instituto Oswaldo Cruz, os quais foram mantidos em meio de Schneider completo, suplementado com 20% de SBF inativado/aquecido a 56°C por 30 minutos, 2mM de L-glutamina, 100 U/mL de penicilina e 100 g/mL de estreptomicina, com subpassagens frequentes, para manter os parasitas em fase de crescimento logarítmico. Após o preparo, essa cultura foi mantida em estufa incubadora de Demanda Bioquímica de Oxigênio (BOD), a 26°C.

#### **4.1.3 Ensaios *in vitro***

A realização dessa etapa envolveu a definição dos seguintes grupos de análise: sem tratamento/controle, tratado com lapachol - também controle, para efeito de comparação, dada sua validação já comprovada em outros estudos (Tunes, 2015; de Araújo, et al, 2017; Araújo, et al, 2019), tratado com nanopartículas - L50 e L90, a fim de averiguar a viabilidade celular dos promastigotas do parasito.

Cada etapa de análise dos ensaios foi projetada graficamente, mediante o uso do software GraphPad Prism.

##### **4.1.3.1 Curva de crescimento das formas promastigotas**

A curva de crescimento dos parasitos em sua forma promastigota foi realizada em duas situações: (I) sem drogas, para verificação do platô de crescimento e (II)

experimento com aplicação das drogas. O experimento foi efetuado em quadruplicatas e repetido por três vezes.

A contagem de parasitos foi realizada em microscópio óptico, com o uso da padronização dada pela câmara de Neubaeuer, onde uma amostra de 10 µL da cultura cultivada de parasitos é depositada em placa de 96 poços, diluída e homogeneizada em 990 µL de formalina 2%, a qual fixa o estado do espécime retirado para análise subsequente no microscópio.

A priori, foi realizado um experimento de investigação comparativa entre diferentes concentrações de parasitos na amostra, a fim de definir aquela que apresentasse melhor padrão de crescimento, sem que o próprio interferisse nas mortes celulares dentro do cultivo. Os valores estabelecidos para testagem foram:  $10^4$ ,  $10^5$  e  $5 \times 10^4$ .

Na situação sem drogas (I), a contagem foi realizada a partir de 24h da passagem da cultura e com intervalos seguintes de 24h entre a contagem do dia anterior, até a constatação de que a cultura alcançou o platô de multiplicação celular, no qual, a partir de então, a cultura se satura e inicia o processo de morte por falta de meio de consumo.

Na situação com drogas (II), repetiu-se o procedimento de preparo da amostra de promastigotas adicionadas dos três compostos contendo lapachol em análise, incubando-se em BOD por 24h a 26°C. Os dias de contagem seguiram até o alcance do platô identificado anteriormente.

#### **4.1.3.2 Viabilidade dos promastigotas**

A viabilidade de promastigotas de *L. amazonensis* foi avaliada da seguinte maneira: uma amostra 600µL (contendo  $2 \times 10^5$  promastigotas) foi tratada com 4µL de cada um dos produtos naturais em análise, por um período de duas horas. Em seguida, foram centrifugadas em vórtex por 10 minutos na velocidade de 3.000 irpm. Foi ainda examinado se os protozoários continuavam viáveis para crescimento após esse tratamento. Por fim, realizou-se a ressuspensão da amostra em meio de cultura Schneider e foi colocado 150µL em cada poço.

Prosseguiu-se a contagem em microscópio óptico dos parasitos mediante câmara de Neubaeuer, em que uma amostra de 10µL, retirada da ressuspensão pós-tratamento, é depositada em placa de 96 poços, diluída e homogeneizada em 90µL

de formalina 2%. As novas contagens tiveram o intervalo 24h subsequentes até o dia do platô.

O experimento foi efetuado em quadruplicatas e repetido por três vezes, enquanto a amostra tratada foi armazenada em BOD a 26°C.

#### **4.1.3.3 Ensaio de morte celular com brometo de etídio**

O ensaio de morte celular foi realizado com aplicação do brometo de etídio, em seu estado físico líquido, um corante, que consiste em um método de coloração diferencial analisada por fluorescência em espectrofotômetro. Ele permite diferenciar células viáveis daquelas em processo de morte por apoptose ou necrose, por ser permeável a membrana não íntegra, alcança o núcleo, logo, o material genético, onde se intercala ao DNA/RNA e exibe, então, a fluorescência laranja (Takahashi, *et al*, 2004; Kosmider, *et al*, 2004).

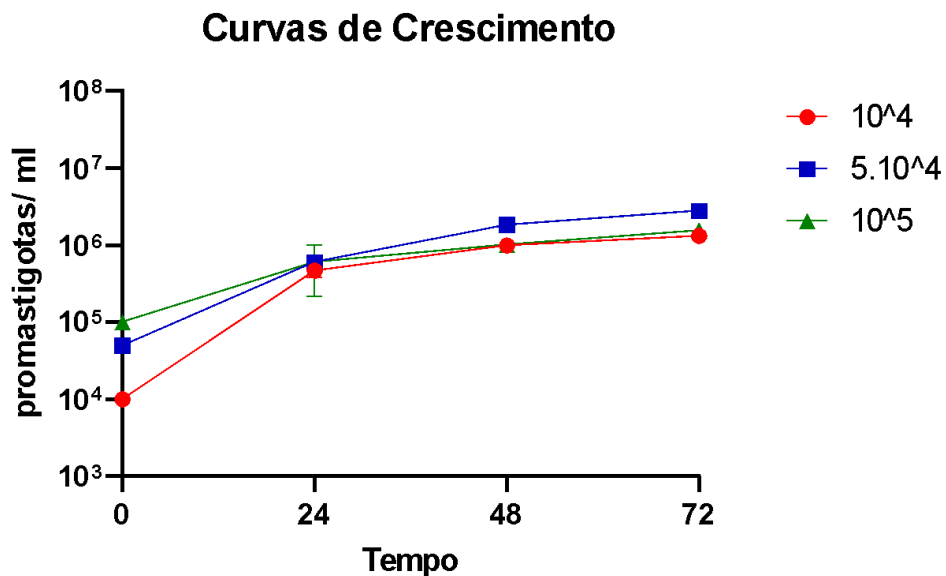
A avaliação foi conduzida nos intervalos de 24h e 48h após incubação das formas promastigotas, tratadas ou não. Para isso, definiu-se cinco grupos: (1) controle – morto/fixado por formalina 2%, considerado 100% de morte celular; (2) não estimulado pelas drogas; (3) tratado com lapachol; (4) tratado com nanopartícula L90 e (5) tratado com nanopartícula L50. As três drogas foram pipetadas ao volume de 1µL, na concentração de 50 µg/mL.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Curva de crescimento

O gráfico mostra que a quantidade de promastigotas, mediante contagem, a cada 24h, na câmara de Neubauer, sendo que no primeiro dia a amostra tem 24h de incubação. Observa-se, então, que a cultura entra em platô e inicia seu decaimento a partir de 72h (03 dias) da passagem.

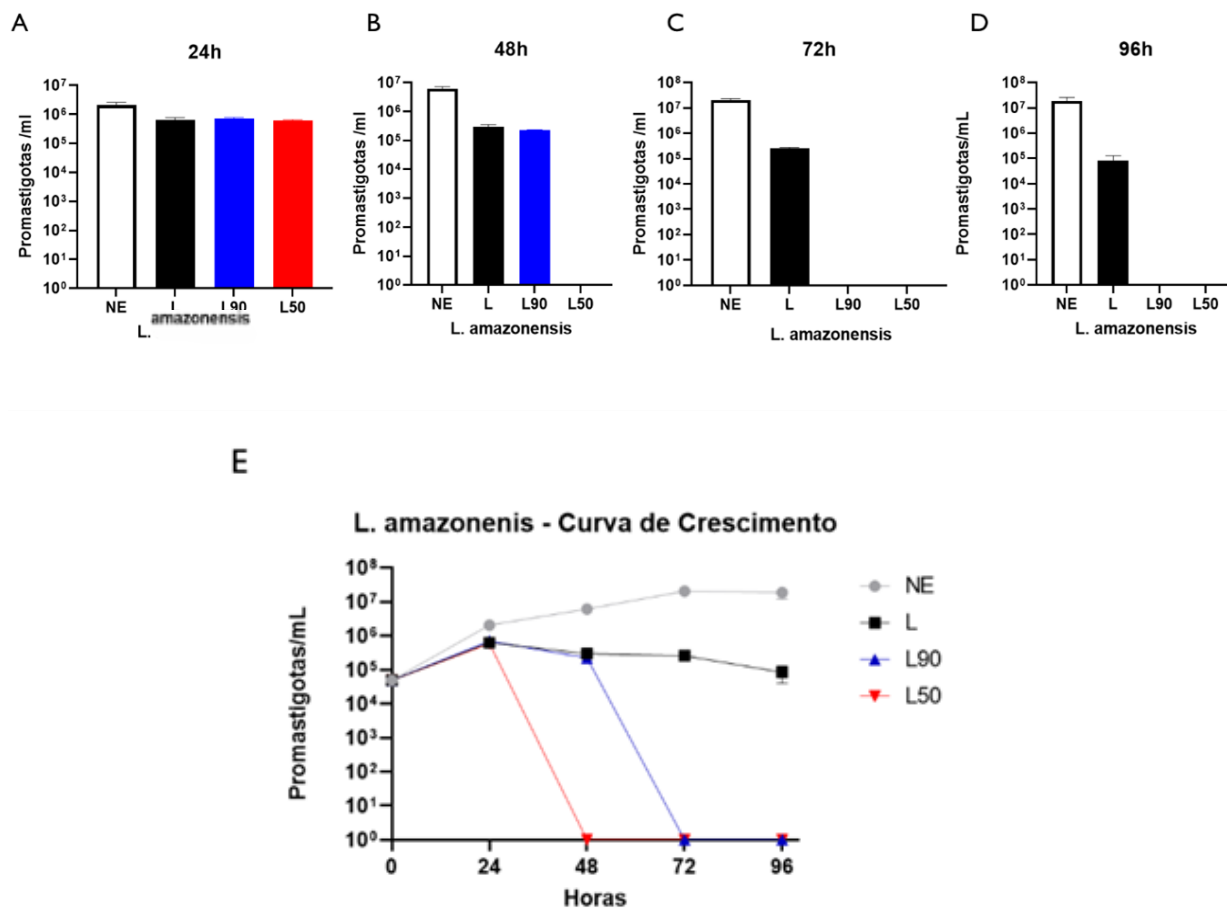
Figura 3. Curva de crescimento de promastigotas de *L. amazonensis* em diferentes concentrações livres em meio de cultura



Fonte: elaborado pelos pesquisadores

Diante disso, seguiu-se com o experimento aplicando-se as drogas. Esse ensaio foi realizado em quadruplicatas, repetido por três vezes e considerando quatro grupos de amostragem: (1) não tratados, (2) tratados com lapachol, (3) tratados com nanopartículas de lapachol 50 e (4) nanopartículas de lapachol 90. Em cada poço foi aplicado 01µL de cada substância analisada. Tais amostras não foram manejadas com outro produto ou procedimento nos dias que seguiram a contagem.

**Figura 4- Curva de crescimento de promastigotas sob estímulo de lapachol e nanopartículas de lapachol**



Fonte: Elaborado pelos pesquisadores

Na figura 4, encontram-se as curvas de crescimento para análise do estímulo das drogas, a partir dos grupos determinados anteriormente, em 24h, 48h, 72h e 96h (A, B, C e D), esses resultados foram também projetados no gráfico de linha para fins de comparação (E).

Nota-se, ao se contrapor aos grupos controle com os grupos de tratamento com nanopartículas, que há uma redução significativa de crescimento na população de promastigotas tratadas com as nanopartículas, inferindo-se que há uma capacidade das drogas de interferir no crescimento do espécime.

Em A, verifica-se que ainda há um crescimento semelhante nos grupos em que as substâncias foram aplicadas. A partir de B, até D os grupos tratados com as nanopartículas mostraram uma queda significativa, o que permite deduzir que interrompeu a multiplicação da população. Enquanto isso, o grupo não tratado manteve seu crescimento exponencial, o que ilustra que a aplicação das drogas de

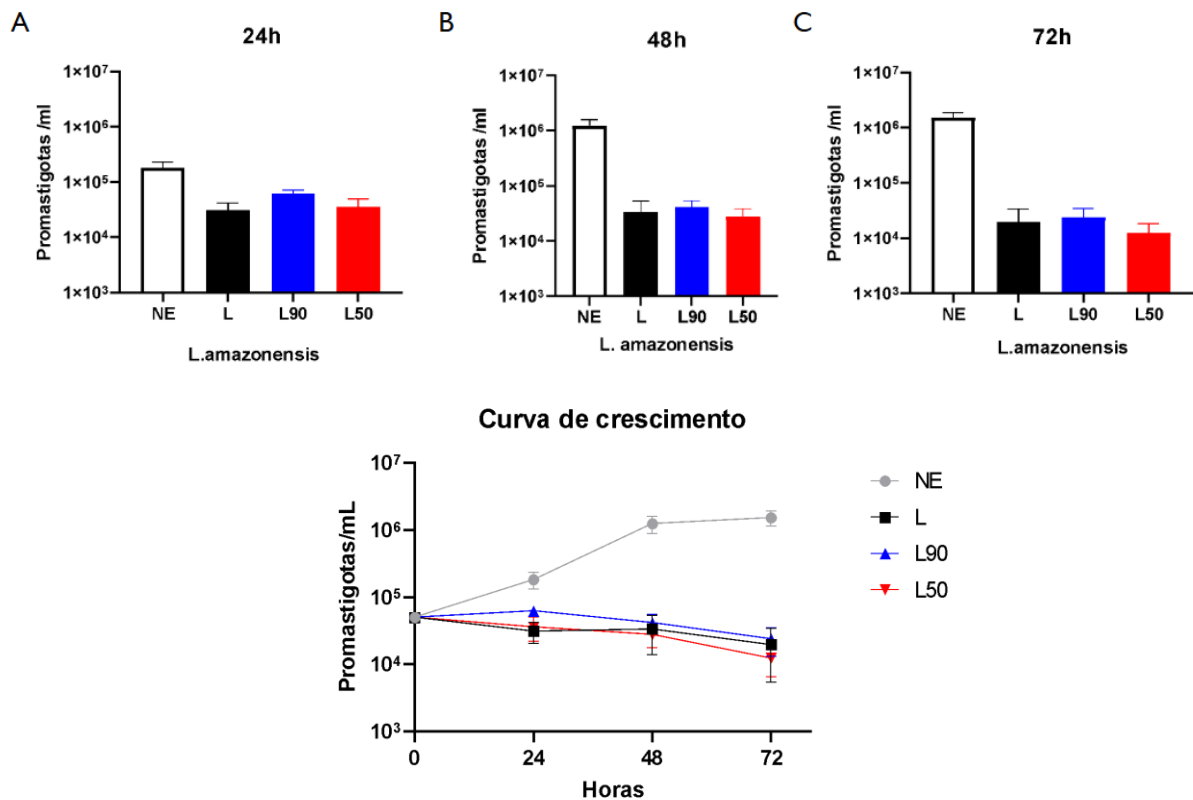
fato afeta a multiplicação da população. Já com o grupo controle de lapachol inalterado, percebeu-se uma condição estacionária.

Posto isso, observou-se que a formulação do grupo L50 foi capaz de exercer uma atividade leishmanicida em menos tempo em comparação à de L90, ao passo que o grupo lapachol tendeu-se a estagnar, levantando a hipótese da atividade leishmaniostática dessa formulação.

## 5.2 Ensaio de viabilidade das formas promastigotas

A figura 5 ilustra os resultados obtidos a partir do procedimento de aplicação das drogas estudadas nas populações promastigotas de *L. amazonensis*, as quais inicialmente contavam com  $5 \times 10^4$  em cada poço. Receberam o tratamento por duas horas e depois foram ressuspendidas e armazenadas para cultivo dando seguimento às contagens em 24h, 48h e 72h.

Figura 5 - Ensaio de viabilidade celular *in vitro* com promastigotas de *L. amazonensis*



Fonte: elaborado pelos pesquisadores

Esse ensaio foi conduzido em quadruplicatas e repetido por três vezes, em grupamentos não tratados e tratados com lapachol e nanopartículas de lapachol 50 e

90. Percebe-se que em A, os promastigotas foram mais sensíveis ao lapachol do que às nanopartículas de lapachol. Contudo, nas contagens seguintes, em B e C, notou-se uma maior intensidade de ação da nanopartícula L50, mesmo comparado a outra nanopartícula L90.

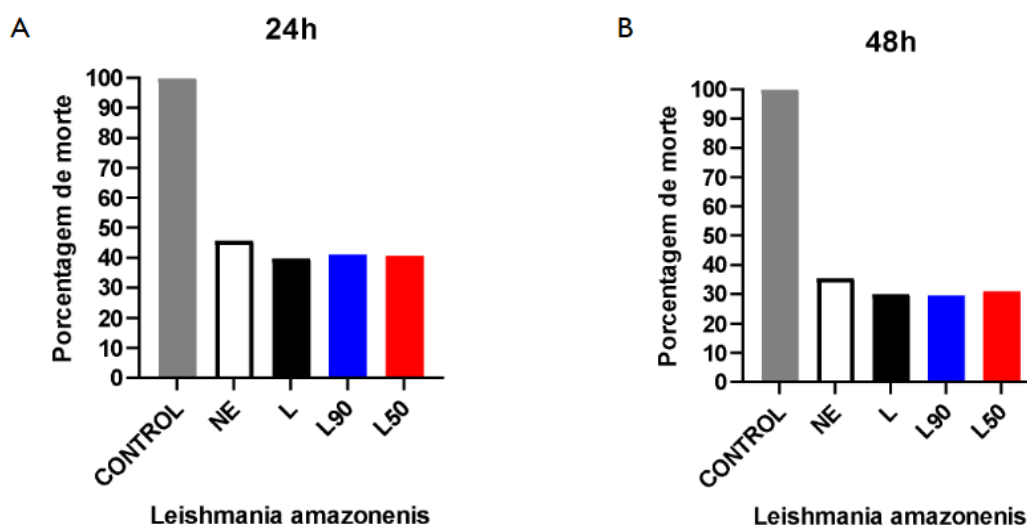
Assim, os poços de controle mantiveram seu crescimento exponencial, já os tratados, tiveram um padrão de decréscimo populacional. No entanto, salienta-se dificuldades na realização do protocolo, no que diz respeito ao processo de homogeneização da amostra coletada da cultura com produtos de tratamento.

Ressalta-se, ainda, que neste ensaio verificou-se que num primeiro momento, a forma pura do lapachol foi mais intensa, porém, nos dias seguintes, a nanopartícula L50 sobressaiu frente às outras drogas, porém a explicação para isso não ficou clara.

### 5.3 Ensaio de morte celular com brometo de etídio

O ensaio de morte celular conta com uso de um método colorimétrico com o corante brometo de etídio, no qual a análise foi feita com o suporte do espectrofotômetro. Nessa etapa, estudou-se um grupo controle com a morte celular por fixação, além dos grupos submetidos ou não às drogas.

Figura 6 - Estudo de morte celular *in vitro* com promastigotas de *L. amazonensis*



Fonte: elaborado pelos pesquisadores

No gráfico da figura 6 é possível identificar a partir da porcentagem de morte celular em cada situação pré-estabelecida em dois momentos de análise: 24h e 48h desde a estimulação com as substâncias. No entanto, os resultados mostram uma

aproximação percentual, isto é, sem diferença significativa entre os grupos. Tal condição levanta a possibilidade de as drogas exercerem um efeito mais evidente do tipo leishmaniosstático e do que leishmanicida, na concentração aplicada (50 µg/mL).

## 6 DISCUSSÃO

A atividade leishmanicida do lapachol puro *in vitro* foi demonstrada em 2001 por Teixeira, *et al*, em *L. braziliensis*. Neste mesmo estudo, observou-se uma redução da toxicidade celular do lapachol ao se comparar com a medicação, que desde 1940 até os dias atuais é considerada de primeira linha, o estibogluconato de sódio, um antimonial pentavalente (Peixoto, *et al*, 2021). Apesar disso, mudanças significativas na terapêutica não foram feitas, o que reforça a negligência com os pacientes acometidos por essa doença marginalizada e a necessidade de se explorar esse campo terapêutico.

Diante disso, as pesquisas contemporâneas procuram encontrar alternativas menos danosas, mediante testagens de combinações entre substâncias, concentrações da droga, formulações e derivados. Um estudo *in vivo* em camundongos BALB/c (Peixoto, *et al*, 2024) confirmou que a combinação terapêutica de epóxi- $\alpha$ -lapachona incorporada em uma microemulsão tipo óleo em água (ELAP-ME) e antimoniato de meglumina (MA) apresentou efeito leishmanicida mais potente e com menor toxicidade e carga parasitária.

Outro estudo, ao considerar o potencial tóxico do lapachol puro, realizou comparações entre combinações de antimoniato de meglumina com derivados do lapachol: epóxi- $\alpha$ -lapachona e epoximetil-lawsona e suas ações isoladas e encontrou que a associação das substâncias eleva o potencial antileishmanico *in vitro* e *in vivo* (Gonçalves-Oliveira, *et al*, 2019). Tais respostas mais efetivas diante da aplicação de combinações de substâncias, podem explicar o destaque para o efeito leishmaniostático encontrado nesta pesquisa, uma vez que as drogas foram aplicadas isoladamente sobre cada amostra, o que, por outro lado, não elimina, nem diminui o êxito do lapachol e suas nanopartículas frente às drogas de primeira e segunda linha já protocoladas.

Em seu ensaio *in vitro* e *in vivo*, Araújo (2017) confirma que o lapachol, utilizado na concentração de 200 $\mu$ g/mL, tem uma ação leishmanicida importante, atingindo as formas promastigotas e amastigotas, apesar de que quando comparado a anfotericina b, foi menor, tanto em *L. amazonensis*, quanto em *L. infantum*. Contudo, não apresentou efeito tóxico aos macrófagos, o que tem relevância, uma vez que se objetiva atingir o parasito e não o hospedeiro. Neste estudo, salienta-se que a

concentração das drogas foi de 50µg/mL, o que pode explicar o destaque ao efeito leishmaniostático encontrado.

No presente estudo, além do lapachol isolado, foram utilizadas dois tipos de nanopartículas derivadas do lapachol. Essa é uma estratégia que se apoia em uma inovação, ao atrelar tecnologia e medicina. A nanomedicina e nanofarmacologia pretendem obter melhor eficácia farmacológica, aumento da especificidade e diminuição dos efeitos adversos, mediante biodisponibilidade melhorada, ao atravessarem barreiras orgânicas (Apolinário, *et al*, 2020), além de favorecer a estabilidade do medicamento e o tempo de circulação sanguínea, o que já foi testado *in vivo* e *in vitro* em células tumorais (Alkhatib, *et al*, 2018; Shanmugapriya, *et al*, 2019).

O uso de diferentes testagens de eficácia de uma droga é relevante para comprovar seu uso efetivo e com menores riscos ao paciente infectado. Dessa forma, em relação a viabilidade celular, os resultados encontrados por Ramos-Milaré, *et al*, (2023) apontam para a indução significativa de morte dos promastigotas de *L. amazonensis*, além da inibição do crescimento dos parasitos, assim como neste estudo, em sua forma promastigota, nos mesmos intervalos de tempo utilizados no experimento realizado neste trabalho.

No entanto, os métodos de análise foram diferentes. Enquanto neste estudo a incubação com as substâncias se deu por 02 horas e a contagem foi feita de modo visual por meio do microscópio óptico, o que traz limitações, no outro utilizou-se teste colorimétrico XTT e espectrofotômetro. Embora, é considerável que ambos tenham mostrados respostas positivas favoráveis ao uso dos produtos naturais, com destaque para a nanopartícula L50, a qual, nesta abordagem se sobressaiu em comparação ao seu substrato de origem o lapachol puro.

Ademais, a negligência quanto essa parasitose é igualmente aparente no mercado farmacêutico, o qual conta com poucas novidades efetivas para terapêutica. Uma das estratégias pesquisadas por Peixoto, *et al* (2021), para atacar com melhor eficácia o protozoário, foi a busca de quimioterápicos capazes de atuar como multi-alvo, ou seja, que agem em mais de um foco da estrutura ou funcionalidade celular e foi comprovado que epóxi- $\alpha$ -Lapachona e epóximetil-Lawsona (ácido tânico), ambos derivados de naftoquinona, são capazes de interferir nas interações enzimáticas.

No presente estudo, não foram analisados mecanismos funcionais intracelulares, mas por meio da testagem de proliferação celular, foi possível observar

que a presença das drogas reduziu a proliferação celular, mas não levou a população tender a zero, o que leva a deduzir que restou certa funcionalidade na amostra, porém reduzida e estabilizada. A partir disso, infere-se o efeito leishmaniostático das nanopartículas utilizadas nas concentrações estabelecidas.

Souza-Silva, et al, (2015) demonstraram que a epóxi- $\alpha$ -lapachona tem a atividade leishmanicida tanto contra promastigotas quanto amastigotas de *Leishmania (L.) amazonensis*, mesma espécie analisada neste estudo. Esses autores identificaram que tal substância causa disfunção metabólica na bomba de íons, o que eles relacionam ao dano mitocondrial e rompimento na integridade da membrana plasmática, a qual foi, ainda, atravessada rapidamente pela droga, em que em uma hora de exposição foi observado redução brusca da atividade metabólica.

Além disso, é necessário considerar as variações morfológicas do *Leishmania spp.* no organismo humano, uma vez que isso serve de mecanismo de proteção. Neste estudo, a análise feita em promastigotas, isto é, replicando o protozoário no meio extracelular, mostrou redução na proliferação celular com a concentração de 50 $\mu$ g/mL. No entanto, já foi encontrado que o lapachol, na concentração de 250g/mL foi ativo apenas contra a forma amastigota intracelular, mas não foi tóxico à essa célula humana (Costa, 2017). Nesse caso, a amostra de protozoário foi obtida a partir de isolamento de paciente resistente à terapia convencional, enquanto neste estudo a linhagem celular foi obtida por passagem de cultura de amostra de cepas armazenadas em laboratório, que serve como proposta promissora para evoluir na busca pela qualidade terapêutica

## 7 CONCLUSÃO

Os resultados dos estudos *in vitro* da atividade leishmanicida das nanopartículas, permitem concluir que os compostos exibiram atividade contra promastigotas de *L. (L.) amazonensis*, no entanto, o destaque foi maior quanto a atividade leishmaniostática.

Diante disso, salienta-se que o uso desses derivados do lapachol, sobretudo a formulação L50 se mostraram uma estratégia que pode ser mais explorada.

Tendo em vista as limitações das medicações instituídas de referência e assim como foi observado na literatura, a tentativa de reduzir esses danos através de combinações diversas mediante expansão de investigação científica aliada à tecnologia das nanopartículas pode ser um caminho que trará bons efeitos para a morbidade e sobrevida dos acometidos.

Como perspectivas futuras, recomenda-se a realização dos ensaios com outras espécies de *Leishmania spp.*, além da atividade dessas nanopartículas sobre macrófagos, para verificar sua toxicidade.

## REFERÊNCIAS

ABADÍAS-GRANADO, I. et al. Leishmaniasis cutánea y mucocutánea. *Actas Dermo-Sifiliográficas*, v. 112, n. 7, p. 601–618, jul. 2021a. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ad.2021.02.008>. Acesso em: 20 de out. de 2023.

ALKHATIB MH, ALSHEHRI WS, ABDU FB. In Vivo Evaluation of the Anticancer Activity of the Gemcitabine and Doxorubicin Combined in a Nanoemulsion. *J Pharm Bioallied Sci*. 2018;10(1):35-42. doi:10.4103/jpbs.JPBS\_225\_17 Disponível em: [https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS\\_225\\_17](https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_225_17). Acesso em: 17 de nov de 2024.

ALVES, S M. Desenvolvimento de sistemas estabilizados por tensoativos para a administração tópica de lapachol no tratamento de Leishmaniose - Dissertação (Mestrado em Ciências Naturais) – Universidade Federal de Sergipe, Itabaiana, SE, 2022. Disponível em: <http://ri.ufs.br/jspui/handle/riufs/17663>. Acesso em: 23 de jan de 2025.

APOLINÁRIO, A C, et al. Abrindo a caixa de pandora dos nanomedicamentos: há realmente muito mais 'espaço lá embaixo'. *Química nova*, v. 43, n. 2, p. 212-225, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170481>. Acesso em: 10 de fev de 2025.

ARAÚJO, I. A. C. et al. Efficacy of lapachol on treatment of cutaneous and visceral leishmaniasis. *Experimental Parasitology*, v. 199, p. 67–73, abr. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2019.02.013>. Acesso em: 20 de out. de 2023.

ARONSON, N. E.; JOYA, C. A. Cutaneous Leishmaniasis: Updates in Diagnosis and Management. *Infectious Disease Clinics of North America*, v. 33, n. 1, p. 101-117, mar. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.idc.2018.10.004>. Acesso em: 20 de out. de 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Manual de vigilância da leishmaniose tegumentar [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. – Brasília: Ministério da Saúde, 2017. 189 p.: il. Edição eletrônica da 2ª edição do livro: Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana, atualizado. Disponível em: [http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual\\_vigilancia\\_leishmaniose\\_tegumentar.pdf](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_leishmaniose_tegumentar.pdf). Acesso em: 20 de out. de 2023.

COSTA EV, BRÍGIDO HP, SILVA JV, COELHO-FERREIRA MR, BRANDÃO GC, DOLABELA MF. Antileishmanial Activity of *Handroanthus serratifolius* (Vahl) S. Grose (Bignoniaceae). *Evid Based Complement Alternat Med*. 2017; 2017:8074275. Disponível em: doi: 10.1155/2017/8074275. Epub 2017 Feb 12. PMID: 28286535; PMCID: PMC5329664. Acesso em 07 de ago de 2024.

DE ALVARENGA, D. G. et al. Leishmaniose visceral: estudo retrospectivo de fatores associados à letalidade. *Medicina Tropical*, v. 43, n. 2, p. 194–197, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0037-86822010000200017>. Acesso em: 20 de out. de 2023.

DE ARAÚJO MV, DAVID CC, NETO JC, et al. Evaluation on the leishmanicidal activity of 2-N,N'-dialkylamino-1,4-naphthoquinone derivatives. *Exp Parasitol*. 2017;176:46-51. Disponível em: doi:10.1016/j.exppara.2017.02.004. Acesso em: 07 ago de 2024.

FERREIRA, M. S.; DIETZE, R. D. Leishmanioses in SALOMÃO, *Infectologia – Bases Clínicas e Tratamento*. 2. ed. - Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2023. Cap 26, p. 225-234.

GONÇALVES-OLIVEIRA LF, SOUZA-SILVA F, DE CASTRO CÔRTEZ LM, et al. The combination therapy of meglumine antimoniate and oxiranes (epoxy- $\alpha$ -lapachone and epoxymethyl-lawsone) enhance the leishmanicidal effect in mice infected by *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. *Int J Parasitol Drugs Drug Resist*. 2019;10:101-108. Disponível em: doi:10.1016/j.ijpddr.2019.08.002. Acesso em 07 ago de 2024

KOSMIDER B, ZYNER E, OSIECKA R, OCHOCKI J. Induction of apoptosis and necrosis in A549 cells by the cis-Pt(II) complex of 3-aminoflavone in comparison with cis-DDP. *Mutat Res*. 2004 Sep 12;563(1):61-70. Disponível em: doi:10.1016/j.mrgentox.2004.05.018. PMID: 15324749. Acesso em: 18 de nov de 2024.

LAGO, J. et al. Dogs Harbor *Leishmania braziliensis* and Participate in the Transmission Cycle of Human Tegumentary Leishmaniasis. *Pathogens*. 12. 2023. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10458093/pdf/pathogens-1200981.pdf>. Acesso em: 20 de out. de 2023.

MURBACK, N. D. N. et al. Leishmaniose tegumentar americana: estudo clínico, epidemiológico e laboratorial realizado no Hospital Universitário de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, v. 86(1): p. 55 - 63,2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0365-05962011000100007>. Acesso em: 20 de out. de 2023.

MULVANEY, Paul. Nanoscience vs Nanotechnology: Defining the Field. *ACS nano*, v. 9, n. 3, p. 2215-2217, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acsnano.5b01418>. Acesso em 10 de fev de 2025.

OMS - Organização Mundial da Saúde. Global report on neglected tropical diseases. OMS, 2023. Disponível em: <https://www.who.int/teams/control-of-neglected-tropical-diseases/global-report-on-neglected-tropical-diseases-2023>. Acesso em: 20 de out. de 2023.

OMS - Organização Mundial da Saúde. Leishmaniasis: key facts. OMS, 2023. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-heets/detail/leishmaniasis>. Acesso em: 20 de out. de 2023.

OMS - Organização Mundial da Saúde. Número de casos de leishmaniose cutânea reportados por país. OMS, 2021. Disponível em: <https://apps.who.int/gho/data/node.main.NTDLEISHCNUM?lang=en>. Acesso em: 20 de out. de 2023.

OPAS. Organização Pan-Americana da Saúde. Leishmanioses: informe epidemiológico da Região das Américas. Nº 13, dezembro de 2024. Washington, D.C.: OPS; 2024. Disponível em: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/51742>. Acesso em: 23 de jan de 2025

OPAS, Organização Pan-Americana de Saúde. Leishmanioses: Informe epidemiológico das Américas. Nº11. (dezembro 2022). 2022. Disponível em: [https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/56832/OPASCDEVT220021\\_por.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/56832/OPASCDEVT220021_por.pdf?sequence=1&isAllowed=y). Acesso em: 20 de out. de 2023.

OMS - Organização Mundial da Saúde. Número de casos de leishmaniose visceral reportados por país. OMS, 2021. Disponível em: <https://apps.who.int/gho/data/node.main.NTDLEISHVNUM?lang=en>. Acesso em: 20 de out. de 2023.

PEIXOTO, J. F. et al. In Silico Insights into the Mechanism of Action of Epoxy- $\alpha$  Lapachone and Epoxymethyl-Lawsone in *Leishmania* spp. *Molecules*, v. 26, n. 12, p. 3537, 10 jun. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules26123537>. Acesso em: 20 de out. de 2023.

PRADHAN, S. et al. Treatment options for leishmaniasis. *Clinical and Experimental Dermatology*, v. 47, n. 3, p. 516–521, 20 out. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/ced.14919>. Acesso em: 20 de out. de 2023.

RAMOS-MILARÉ ÁCFH, SYDOR BG, BRUSTOLIN AÁ, et al. In vitro effects of lapachol and  $\beta$ -lapachone against *Leishmania amazonensis*. *Braz J Med Biol Res*. 2023;56:e12693. Published 2023 May 29. Disponível em: doi:10.1590/1414-431X2023e12693. Acesso em: 25 de jan de 2025.

RAMOS-MILARÉ, A. C. F. H. Atividade leishmanicida e alterações morfológicas em *Leishmania* (*Leishmania*) *amazonensis* tratadas com lapachol e  $\beta$ -lapachona. 2018. 57p. Dissertação (mestrado em Ciências da Saúde). Universidade Estadual de Maringá - Centro de Ciências da Saúde: Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde. Maringá, 2018. Disponível em: <http://repositorio.uem.br:8080/jspui/handle/1/5838>. Acesso em: 20 de out. de 2023.

SHANMUGAPRIYA K, KIM H, KANG HW. In vitro antitumor potential of astaxanthin nanoemulsion against cancer cells via mitochondrial mediated apoptosis. *Int J Pharm*. 2019;560:334-346. Disponível em: doi:10.1016/j.ijpharm.2019.02.015. Acesso em: 17 de nov de 2024.

SILVA, W P. Avaliação das propriedades ópticas e obtenção do lapachol,  $\beta$ -lapachona e um derivado tiossemicarbazona. 51p. Orientador Adeildo Júnior de Oliveira. Trabalho de Conclusão de Curso - Química. UNIVERSIDADE FEDERAL

DE ALAGOAS - UFAL. ARAPIRACA. 2019. Disponível em: <https://ud10.arapiraca.ufal.br/repositorio/publicacoes/2678>. Acesso em: 18 de nov de 2024.

SOUZA-SILVA F, BOURGUIGNON SC, PEREIRA BA, et al. Epoxy- $\alpha$ -lapachone has in vitro and in vivo anti-leishmania (*Leishmania*) amazonensis effects and inhibits serine proteinase activity in this parasite. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015;59(4):1910-1918. Disponível em: doi:10.1128/AAC.04742-14. Acesso em: 07 de ago 2024.

TAKAHASHI A, MATSUMOTO H, YUKI K, YASUMOTO J, KAJIWARA A, AOKI M, FURUSAWA Y, OHNISHI K, OHNISHI T. High-LET radiation enhanced apoptosis but not necrosis regardless of p53 status. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2004 Oct 1;60(2):591-7. doi: 10.1016/j.ijrobp.2004.05.062. PMID: 15380596. Acesso em: 18 de nov de 2024.

TEIXEIRA, M. J. et al. In vitro and in vivo Leishmanicidal activity of 2-hydroxy-3-(3-methyl-2-butenyl)-1,4-naphthoquinone (lapachol). *Phytotherapy Research*, v. 15, n. 1, p. 44–48, 2001. Disponível em: [https://doi.org/10.1002/10991573\(200102\)15:1<44::AID-PTR685>3.0.CO;2-1](https://doi.org/10.1002/10991573(200102)15:1<44::AID-PTR685>3.0.CO;2-1). Acesso em: 20 de out. de 2023.

TUNES, Luiza Guimarães. Investigação da Atividade e Mecanismos de Ação Leishmanicida e/ou Tripanocida de Produtos Naturais e um Derivado. 2015. 105 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Centro de Pesquisas René Rachou, Fundação Oswaldo Cruz, Belo Horizonte, 2015. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/12299>. Acesso em: 23 de jan de 2025

VANNIER-SANTOS, M.; MARTINY, A.; SOUZA, W. Cell Biology of *Leishmania* spp.: Invading and Evading. *Current Pharmaceutical Design*, v. 8, n. 4, p. 297–318, 1 fev. 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/1381612023396230>. Acesso em: 20 de out. de 2023.