UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
CAMPUS UNIVERSITÁRIO MINISTRO PETRÔNIO PORTELA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

JHENNIFER SANTOS MARTINS

COMPOSTO QUINÔNICO SD4: ENSAIO SOBRE SUA AÇÃO ANTILEISHMANIA, CITOTOXICIDADE E IMUNOMODULAÇÃO

TERESINA-PI
2025

JHENNIFER SANTOS MARTINS

COMPOSTO QUINÔNICO SD4: ENSAIO SOBRE SUA AÇÃO ANTILEISHMANIA, CITOTOXICIDADE E IMUNOMODULAÇÃO

Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação em ciências farmacêuticas da universidade federal do piauí (ufpi), como requisito para obtenção do grau de mestre.

Orientador: profº. Dr. Fernando aécio de amorim carvalho
Coorientador: profº. Dr. Michel muálem de moraes alves

TERESINA-PI

2025

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Federal do Piauí
Biblioteca Comunitária Jornalista Carlos Castello Branco
Divisão de Representação da Informação

M386c Martins, Jhennifer Santos.
Composto quinônico SD4 : ensaio sobre sua ação antileishmania, citotoxicidade e imunomodulação / Jhennifer Santos Martins. – 2025.
78 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Piauí, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Teresina, 2025.
"Orientador: Prof. Dr. Fernando Aécio de Amorim Carvalho."
"Coorientador: Prof. Dr. Michel Muálem de Moraes Alves."

1. *Leishmania amazonensis*. 2. *Leishmania infantum*. 3. Moléculas sintetizadas. 4. Citotoxicidade. 5. Doenças negligenciadas. 6. Produtos naturais. I. Carvalho, Fernando Aécio de Amorim. II. Alves, Michel Muálem de Moraes. III. Título.

CDD 616.936 4

Bibliotecária: Francisca das Chagas Dias Leite – CRB3/1004

JHENNIFER SANTOS MARTINS

COMPOSTO QUINÔNICO SD4: ENSAIO SOBRE SUA AÇÃO ANTILEISHMANIA, CITOTOXICIDADE E IMUNOMODULAÇÃO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Piauí (UFPI), como requisito para obtenção do Grau de Mestre.

Orientador: Profº. Dr. Fernando Aécio de Amorim Carvalho
Coorientador: Profº. Dr. Michel Muálem de Moraes Alves

Aprovada em: 15 de setembro de 2025

BANCA EXAMINADORA

Fernando Aécio de Amorim Carvalho

Profº. Dr. Fernando Aécio de Amorim Carvalho
Orientador

Mauricio Pires de Moura do Amaral

Profº Dr. Mauricio Pires de Moura do Amaral
Examinador Interno ao Programa

Carla Solange de Melo Escórcio Dourado

Profº Dra. Carla Solange de Melo Escórcio Dourado
Examinador Externo ao Programa

Josie Haydeé Lima Ferreira Damasceno

Profº Dra. Josie Haydée Lima Ferreira
Examinador Externo ao Programa

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ

REITORA
Profa. Dra. Nadir do Nascimento Nogueira

VICE-REITOR
Prof. Dr. Edmilson Miranda de Moura

PRÓ-REITORA DE ENSINO E PÓS-GRADUAÇÃO
Profa. Dr. Carlos Sait Pereira de Andrade

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
Prof. Dr. Arquimedes Cavalcante Cardoso

COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Prof. Dr. André Luiz Menezes Carvalho

VICE-COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Profa. Dra. Marcília Pinheiro da Costa

Composto quinônico SD4: Ensaio sobre sua ação antileishmania, citotoxicidade e imunomodulação. Jhennifer Santos Martins. Orientador: Profº. Dr. Fernando Aécio de Amorim Carvalho. Dissertação. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas - PPGCF, Universidade Federal do Piauí - UFPI, 2025.

RESUMO

A leishmaniose é classificada como uma doença negligenciada causada por protozoários do gênero *Leishmania*, caracterizada por elevada incidência e mortalidade, o que evidencia sua relevância e impacto nos sistemas de saúde. O tratamento disponível é limitado, sendo realizado com fármacos que apresentam elevada toxicidade, alto custo, resistência parasitária e dificuldade de acesso em regiões endêmicas. Nesse contexto, produtos naturais e seus derivados destacam-se como importante fonte de moléculas bioativas com potencial terapêutico. No entanto, o isolamento desses compostos apresenta dificuldades, o que impulsiona a síntese de moléculas estruturalmente derivadas desses produtos. Este estudo avaliou o composto sintetizado SD4, derivado da β-lapachona, quanto à atividade antileishmania, citotoxicidade e efeitos imunomoduladores. As cepas de *L. amazonensis* e *L. infantum* foram cultivadas em meio Schneider suplementado, e as formas promastigotas foram tratadas com SD4 em concentrações entre 0,78 e 100 µg/mL. A atividade antileishmania foi avaliada pelo ensaio com resazurina após 48 horas, utilizando a Anfotericina B (2 µg/mL) como controle positivo. A citotoxicidade foi determinada em macrófagos murinos por ensaio MTT, e o índice de seletividade foi obtido pela razão CC_{50}/CI_{50}. O potencial hemolítico foi mensurado em eritrócitos de carneiro incubados com SD4 (0,78–100 µg/mL), e a toxicidade in vivo foi avaliada em larvas de *Tenebrio molitor*, monitoradas por 72 horas. Para os ensaios de infecção intracelular, macrófagos foram infectados com *L. amazonensis* e *L. infantum* e tratados com o composto nas concentrações de ½×, 1× e 2× CI_{50}. A produção de óxido nítrico foi quantificada pelo método de Griess, enquanto a atividade lisossomal e a capacidade fagocítica foram determinadas por ensaios colorimétricos utilizando vermelho neutro e Zimosan, respectivamente. O composto SD4 apresentou inibição significativa das formas promastigotas de *L. amazonensis* e *L. infantum* e reduziu a infecção intracelular em macrófagos em 62,4% e 54,7%, respectivamente, na concentração de 2× CI_{50}. Ensaios de citotoxicidade indicaram índice terapêutico de 28,68, enquanto os testes de hemólise revelaram taxas inferiores a 5%, evidenciando segurança celular e ausência de efeito hemolítico relevante. No modelo *in vivo*, a sobrevivência das larvas de *T. molitor* superou 80% após 72 horas. O composto SD4 também aumentou a produção de óxido nítrico, a capacidade fagocítica e o volume lisossomal em macrófagos, sugerindo efeito imunomodulador. Os resultados obtidos reforçam que compostos bioativos apresentam elevado potencial no desenvolvimento de novos fármacos, sendo o composto SD4 um exemplo representativo dessa capacidade, o que justifica a continuidade dos estudos para elucidar seu mecanismo de ação e sua eficácia como agente terapêutico contra a leishmaniose.

Palavras-chave: Moléculas sintetizadas; *Leishmania amazonensis*; *Leishmania infantum*; citotoxicidade; doenças negligenciadas; produtos naturais.

Quinone compound SD4: Essay on its antileishmanial action, cytotoxicity and immunomodulation. Jhennifer Santos Martins. Advisor: Prof. Dr. Fernando Aécio de Amorim Carvalho. Dissertation. Postgraduate Program in Pharmaceutical Sciences - PPGCF, Federal University of Piauí - UFPI, 2025.

ABSTRACT

Leishmaniasis is classified as a neglected disease caused by protozoa of the genus Leishmania, characterized by high incidence and mortality, highlighting its relevance and impact on health systems. Available treatment is limited, relying on drugs that exhibit high toxicity, high cost, parasite resistance, and difficulty of access in endemic regions. In this context, natural products and their derivatives stand out as an important source of bioactive molecules with therapeutic potential. However, isolating these compounds presents difficulties, which drives the synthesis of structurally derived molecules from these products. This study evaluated the synthesized compound SD4, derived from β-lapachone, for its antileishmanial activity, cytotoxicity, and immunomodulatory effects. Strains of L. amazonensis and L. infantum were cultured in supplemented Schneider medium, and promastigote forms were treated with SD4 at concentrations between 0.78 and 100 µg/mL. Antileishmanial activity was evaluated by the resazurin assay after 48 hours, using Amphotericin B (2 µg/mL) as a positive control. Cytotoxicity was determined in murine macrophages by MTT assay, and the selectivity index was obtained by the CC_{50}/CI_{50} ratio. Hemolytic potential was measured in sheep erythrocytes incubated with SD4 (0.78–100 µg/mL), and in vivo toxicity was evaluated in Tenebrio molitor larvae, monitored for 72 hours. For intracellular infection assays, macrophages were infected with L. amazonensis and L. infantum and treated with the compound at concentrations of ½×, 1×, and 2× CI_{50}. Nitric oxide production was quantified using the Griess method, while lysosomal activity and phagocytic capacity were determined by colorimetric assays using neutral red and Zymosan, respectively. The SD4 compound showed significant inhibition of promastigote forms of L. amazonensis and L. infantum and reduced intracellular infection in macrophages by 62.4% and 54.7%, respectively, at a concentration of 2× CI_{50}. Cytotoxicity assays indicated a therapeutic index of 28.68, while hemolysis tests revealed rates below 5%, demonstrating cellular safety and the absence of a relevant hemolytic effect. In the in vivo model, the survival of T. molitor larvae exceeded 80% after 72 hours. The SD4 compound also increased nitric oxide production, phagocytic capacity, and lysosomal volume in macrophages, suggesting an immunomodulatory effect. The results obtained reinforce that bioactive compounds have high potential in the development of new drugs, with compound SD4 being a representative example of this capacity, which justifies the continuation of studies to elucidate its mechanism of action and its effectiveness as a therapeutic agent against leishmaniasis.

Keywords: Synthesized molecules; *leishmania amazonensis*; cytotoxicity; neglected diseases; natural products; *leishmania infantum*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, em sua infinita sabedoria e amor, guia meus passos e fortalece minha fé a cada dia. Sou grata por sua presença constante em minha vida e pelas bênçãos que, muitas vezes silenciosas, transformam meus dias em esperança e alegria.

Aos meus amados pais, pelo amor incondicional, apoio moral e incentivo contínuo de todos os momentos tudo foi possível graças ao amor e dedicação de vocês. Sou eternamente grata.

A minha irmã Dainesy, pelo apoio constante, assim como minhas irmãs Jéssica e Daisy pelo companheirismo, irmandade e afeto diário.

Ao meu esposo, João de Araujo Borges Neto, agradeço por todo o suporte durante esta caminhada. Seu apoio, carinho e presença foram fundamentais em cada passo desta jornada.

À família Araújo (Fabiola Martins, José Ismar, Daniel, Joyce, Ellen, Bruno) por serem minha segunda família.

Ao meu querido orientador, Prof. Dr. Fernando Aécio de Amorim Carvalho, expresso minha profunda gratidão pela confiança depositada em minha formação acadêmica. Sinto-me honrada por tê-lo nesta trajetória científica, e os ensinamentos recebidos permanecerão como referência em minha vida profissional. Registro também meus sinceros agradecimentos ao coorientador, Prof. Dr. Michel Mualém de Moraes Alves, pelas valiosas contribuições, fortalecimento do laboratório, pelo apoio constante e por incentivar todos os alunos a atingirem seu máximo potencial e ao Prof. Dr. André Luís Menezes Carvalho, registro minha gratidão pela paciência, pelo zelo e pelo cuidado demonstrados ao longo deste trabalho.

Aos colegas do Laboratório Paulline Paiva, Karla Germana, Eduardo Lima, Bianca, Rita de Cássia, Victoria Rebouças e aos demais pela convivência harmoniosa, pelo auxílio nas atividades experimentais e pelo companheirismo.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, agradeço o constante suporte oferecido aos alunos, em especial aos professores do programa, que contribuíram não apenas para o aprendizado, mas também compartilharam suas valiosas experiências.

À Universidade Federal do Piauí, pela infraestrutura e pela equipe profissional capacitada, comprometida com a excelência no ensino.

Agradeço a todos que estiveram ao meu lado nesta jornada, que compartilharam esforços e desafios comigo. Reconheço que cada dedicação e empenho se transformaram em conquistas. Obrigada!

“Entrega o teu caminho ao Senhor; confia nele, e ele tudo fará.”

Salmo 37:5

Composto quinônico SD4: Ensaio sobre sua ação antileishmania, citotoxicidade e imunomodulação. Jhennifer Santos Martins. Orientador: Profº. Dr. Fernando Aécio de Amorim Carvalho. Dissertação. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas - PPGCF, Universidade Federal do Piauí - UFPI, 2025.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Índice composto trienal da Leishmaniose Visceral no Brasil – estratificação de risco, 2007–2020.	18
Figura 2. Vetor flebotomíneo	20
Figura 3. Representação do ciclo de vida de *Leishmania* spp	20
Figura 4. Leishmaniose cutânea com manifestação de lesão ulcerada. (A) Manifestação única. (B) Manifestações múltiplas.	22
Figura 5. Úlceras oriundas de leishmaniose mucocutânea com secreção purulenta abundante e necrose na região malar esquerda e lábio superior. Lesão infiltrada e erosada na mucosa do palato duro. Presença de fístula com secreção purulenta	23
Figura 6. Paciente com Leishmaniose Visceral.	24
Figura 7. Plantas de *Handroanthus serratifolius* e *Tabebuia avellanedae* em sua forma florida	29
Figura 8. Representação esquemática da fórmula estrutural: (A) Lapachol (B) β-Lapachona e (C) SD4 NIMZ4 – 4,5-dihydro-6,6-dimethyl-6H-2-(4-isopropylphenyl) -pyran[b- 4,3]naphth[1,2-d]imidazole, composto sintetizado do lapachol.	30
Figura 09 - Representação esquemática do processo de isolamento do lapachol a partir de *Tabebuia* spp. (família Bignoniaceae)	34
Figura 10. Esquema representativo do teste realizado em larvas de *T. molitor com* substância SD4.	40
Figura 11. Efeito do composto SD4 sobre formas promastigotas de *L. amazonensis*. Exposição dos parasitas (1 x 10^5) por 48 horas a diferentes concentrações das substâncias. Viabilidade celular avaliada pela ação da Resazurina®.	43
Figura 12. Análise do Efeito Citotóxico da Molécula Sintetizada SD4 em Macrófagos Murinos da molécula sintetizada SD4 após 48 h de exposição.	46
Figura 13. Efeito da molécula sintetizada SD4 na viabilidade de eritrócitos. Laboratório de Atividade Antileishmania.	49

Figura 14. Sobrevivência das larvas de *Tenebrio molitor* após 24, 48 e 72 horas de exposição à molécula sintetizada SD4. 50

Figura 15. Infecção de macrófagos murinos sob diferentes condições de tratamento com composto SD4 em cepas de *L. infantum*. 52

Figura 16. Macrófagos experimentalmente infectados com *L. infantum*. Anf B foi utilizada como controle positivo (A). O grupo controle está representado na figura (B). 53

Figura 17. Macrófagos murinos infectados com *L. infantum* e posteriormente tratados com o composto SD4. Foram utilizadas as concentrações referentes a ½ x CI_{50}, 1 x CI_{50}, e 2 x CI_{50}, respectivamente. 54

Figura 18. Efeito do composto SD4 na infecção de macrófagos por *Leishmania amazonensis* 54

Figura 19. Macrófagos experimentalmente infectados com *L. amazonensis*. Anfotericina B foi utilizada como controle positivo (A). O grupo controle está representado na figura (B). 55

Figura 20. Macrófagos murinos infectados com *L. amazonensis* e posteriormente tratados com o composto SD4. Foram utilizadas as concentrações referentes a ½ x CI_{50}, 1 x CI_{50}, e 2 x CI_{50}, respectivamente. 55

Figura 21. Índice de sobrevivência de macrófagos infectados sob diferentes concentrações. 57

Figura 22. Avaliação do potencial pró-inflamatório de SD4 em macrófagos não infectados 58

Figura 23. Avaliação da síntese de Óxido Nítrico em Macrófagos após Tratamento com o composto SD4 com *L. infantum*. 60

Figura 24. Comparação entre o estímulo inflamatório de LPS e SD4 na produção de nitrito em *L. amazonensis* 61

Figura 25. Capacidade fagocítica de macrófagos não infectados em resposta ao tratamento com SD4 63

Figura 26. Avaliação da atividade lisossomal no composto SD4 em macrófagos 64

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

Anf B	Anfotericina B
CC_{50}	Concentração do composto que causa 50% de citotoxicidade
CN	Controle negativo
DTNs	Doenças tropicais negligenciadas
CI_{50}	Concentração Inibitória para matar 50% de uma dada população
LC	Leishmaniose Cutânea
LMC	Leishmaniose Mucocutânea
LV	Leishmaniose Visceral
SINAN	Sistema de Informação de Agravo e Notificações
TL	Terapia larval
SFB	Soro Fetal Bovino
PNPMF	Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos
SUS	Sistema Único de Saúde
OMS	Organização Mundial da Saúde
NPPM	Núcleo de Pesquisa em Produtos Naturais
BOD	*Biological Oxygen Demand* (Demanda Biológica de Oxigênio)
DMSO	Dimetilsulfóxido
TNF	Fator de Necrose Tumoral
IL-6	Interleucina 6
PBS	*Phosphate Buffered Saline* (Solução salina tamponada com fosfato)
SD4	4,5-dihydro-6,6-dimethyl-6H-2-(4-isopropylphenyl) -pyran[b-4,3]naphth[1,2-d]imidazole,

SUMÁRIO

1.0 INTRODUÇÃO	16
1.1 Leishmaniose: características e incidência	16
1.2 Epidemiologia	17
1.3 Vetor e ciclo biológico da *Leishmania* spp	19
1.4 Formas clínicas da doença	21
1.4.1 Leishmaniose Cutânea	21
1.4.2 Leishmaniose Mucocutânea	23
1.4.3 Leishmaniose Visceral	24
1.5 Tratamento da leishmaniose	25
1.6 Produtos naturais	26
1.7 Família Bignoniaceae	28
1.8 Derivados quinolônicos como alternativa terapêutica	29
1.9 Moléculas sintéticas	32
1.9.1 Composto SD4	33
JUSTIFICATIVA	35
OBJETIVOS	36
3.1 OBJETIVO GERAL	36
3.2 OBJETIVO ESPECÍFICOS	36
4.0 MATERIAL E MÉTODOS	37
4.1 Parasitas, preparação celular e condições de cultivo	37
4.2 Avaliação da atividade antileishmania do composto SD4 contra formas promastigotas	37
4.3 Determinação da citotoxicidade do composto SD4 em macrófagos murinos	38
4.4 Investigação do índice de hemólise do composto SD4 em eritrócitos de carneiro	38
4.5 Análise da toxicidade do composto SD4 em larvas de *Tenebrio molitor*	39
4.6 Avaliação da infecção e infectividade por *L. amazonensis* e *L. infantum* em macrófagos murinos tratados com o composto SD4	40
4.7 Avaliação da indução de síntese de óxido nítrico por macrófagos tratados com o composto SD4	41
4.8 Avaliação da atividade lisossomal com o composto SD4	41

4.9 Determinação da capacidade fagocítica	41
4.10 Análise estatística	42
5.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
5.1 Atividade antileishmania do composto quinônico SD4 sobre formas promastigotas de *L. amazonensis*	43
5.2 Determinação da citotoxicidade do composto SD4 em macrófagos murinos e índice de seletividade	45
5.3 Índice de hemólise do composto SD4 em eritrócitos de carneiro	48
5.4 Toxicidade da molécula sintetizada SD4 em larvas de *Tenebrio molitor*	49
5.5 Avaliação da infecção e infectividade de macrófagos com *Leishmania amazonensis e Leishmania infantum* e tratados com SD4	51
5.6 Índice de sobrevivência na infecção de macrófagos com composto SD4 em cepas de leishmania.	56
5.7 Avaliação da indução de síntese de óxido nítrico por macrófagos tratados com SD4	57
6.0 Investigação da capacidade fagocítica e o volume lisossomal de macrófagos tratados com SD4	62
7.0 CONCLUSÃO	65

1.0 INTRODUÇÃO

1.1 Leishmaniose: Características e incidência

As Doenças Tropicais Negligenciadas (DTNs) caracterizam-se como um conjunto de doenças infecciosas que afetam milhões de indivíduos ao redor do mundo, principalmente aqueles em condições mais vulneráveis. Entre as principais DTNs, como hanseníase, doença de Chagas, dengue e parasitoses intestinais, as leishmanioses se destacam por suas características endêmicas em regiões como África, Ásia, Oriente Médio, Europa e América Central e do Sul (WHO, 2023; Hotez et al., 2023).

Fatores de risco, como a pobreza e os danos ambientais, influenciam significativamente os agravos das doenças negligenciadas, sendo a pobreza um fator subjacente importante para a leishmaniose. Além disso, os danos ambientais, como o desflorestamento, a urbanização e as mudanças climáticas frequentes, também contribuíram para o aumento mundial dessas doenças (Grifferty et al., 2021; Hotez, 2023).

As leishmanioses são causadas por protozoários do gênero *Leishmania*. Essas doenças possuem uma alta incidência e letalidade, sendo consideradas um problema de saúde pública (Benitez et al., 2020). As principais formas clínicas são classificadas em três tipos: cutânea, mucocutânea e visceral (Torres Guerrero et al., 2020).

A Forma Cutânea (LC) é a mais comum no Brasil e pode se apresentar de forma localizada, disseminada ou difusa (Vasconcelos et al., 2020). Todavia, a leishmaniose mucocutânea (LM) é uma condição altamente desfigurante em estágios avançados de destruição da mucosa e cartilagem oronasofaríngea, podendo afetar a laringe e levar à pneumonia (Burza; Croft; Boelaert, 2020). Já a forma visceral (LV) apresenta-se como uma doença que leva a um estado de debilidade progressiva, caracterizado por febre, hepatoesplenomegalia, linfadenopatia, anemia, hipergamaglobulinemia e edema, podendo ocasionar o óbito nos pacientes não tratados (Lucena & Medeiros, 2020).

Como medidas de prevenção, o Sistema Único de Saúde (SUS) disponibiliza à população meios que viabilizam as notificações e o combate aos focos dos mosquitos por meio dos agentes de saúde (Vasconcelos et al., 2020). A terapia medicamentosa pelo programa do SUS para tratamento das formas de leishmaniose visa garantir a adesão ao tratamento, o alívio dos sintomas e minimizar o desconforto causado pela doença, assegurando a administração segura dos medicamentos indicados, o controle e/ou a minimização da ocorrência de efeitos adversos (Brasil, 2020).

1.2 Epidemiologia

As leishmanioses estão presentes, endemicamente, em 98 países e territórios, onde mais de 350 milhões de pessoas correm risco de contraí-las. Esse quadro resulta, anualmente, em cerca de 20.000 a 30.000 mortes. Estima-se a ocorrência de 0.7-1.2 milhões de novos casos por ano, principalmente na bacia do Mediterrâneo, nas Américas e Ásia (Pace, 2014). Nas Américas, um total de 940.396 casos novos de LC e LM foram reportados por 17 dos 18 países endêmicos no período de 2001-2017, com uma média anual de 55.317 casos (Who, 2021; Paho, 2019).

Nas Américas, observou-se decréscimo acentuado no período de 2020-2021 em países como Venezuela (- 400%) e Paraguai (-123%). O menor valor da incidência ocorreu em 2020 (1,94/100 000 habitantes), ano que marcou o mundo devido à pandemia ocasionada pela COVID-19. A pandemia de COVID-19 reordenou os serviços de saúde e que fatores como isolamento e distanciamento social podem ter impactado negativamente nas ações e serviços de saúde relacionados à vigilância e ao controle das leishmanioses. (Nina, et al*.,* 2020).

No período de 2013 a 2017, o estado do Maranhão evidenciou-se como principal em número de casos de Leishmaniose Visceral (LV) no Brasil, refletindo a persistência da doença como um grave problema de saúde pública nas regiões Norte e Nordeste. Fatores como o clima tropical, a elevada taxa de pobreza e a urbanização desordenada contribuem significativamente para a manutenção da transmissão da enfermidade nesses territórios. Em 2018, o Maranhão registrou 653 casos confirmados, excedendo estados como Pará (503 casos), Minas Gerais (324) e Ceará (308) (Martins-Melo et al., 2020).

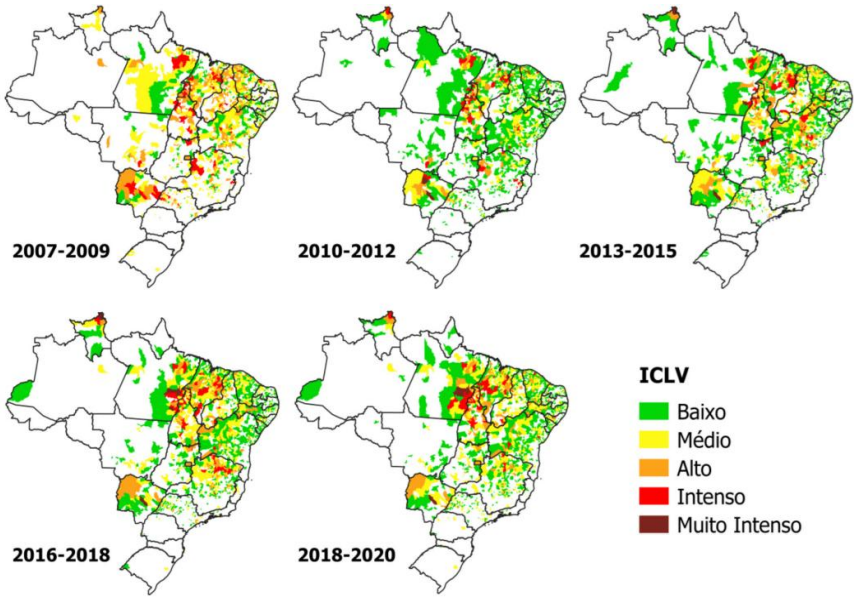
Em 2023, observou-se um aumento significativo da endemia, com o registro de 27 casos notificados e tratados. Entretanto, a partir de março de 2024, houve um declínio no número de casos detectados, com 17 casos confirmados até julho do mesmo ano. Dados mais recentes indicam que, entre 2015 e 2024, o Maranhão concentrou 38,1% dos 5.753 casos confirmados de LV na região Nordeste, evidenciando que o estado continua sendo um dos mais afetados, especialmente entre crianças e adolescentes (Santos & Lopes, 2025)

No estado do Piauí, a LV continua representando um importante problema de saúde pública, com registro de 222 casos confirmados em 2023, segundo dados da Secretaria de Estado da Saúde do Piauí. O estado apresenta condições ambientais e socioeconômicas favoráveis à manutenção do ciclo de transmissão, como clima tropical, presença de vetores em áreas urbanas e periurbanas e deficiências no saneamento básico. A persistência da doença no território piauiense evidência que, apesar dos avanços nas ações de vigilância e controle,

ainda há desafios na detecção precoce e no manejo clínico dos casos, especialmente em municípios do interior, onde o acesso aos serviços de saúde é limitado (SESAPI, 2024).

As mudanças climáticas contribuem para a distribuição potencial do inseto vetor dessas enfermidades (*Lutzomyia longipalpis*) no Brasil, e se expande durante os episódios de El Niño e La Niña, especialmente em Roraima, Pará, Acre e Mato Grosso. Essa expansão pode ser influenciada por mudanças na precipitação, que podem aumentar a disponibilidade de habitats adequados e influenciar a abundância de potenciais hospedeiros. Além disso, o processo de urbanização em curso nesses estados também pode favorecer a presença de *L. longipalpis*, e os fatores ambientais (temperatura, umidade, luminosidade, altitude e cobertura vegetal), variações de precipitação, secas e aumento de anomalias na temperatura da superfície do mar, e suas diferenças particulares entre cada bioma, podem influenciar a transmissão do parasita e, consequentemente, afetar o desenvolvimento da LV (Gutiérrez et al., 2024).

Figura 1 – Índice composto trienal da leishmaniose visceral no Brasil – estratificação de risco, 2007-2020



Fonte: SINAN – Sistema de Informação de Agravos de Notificação, 2024.

1.3 Vetor e ciclo biológico da *Leishmania* spp.

A *Leishmania* spp. pode se propagar para órgãos como pele, baço, medula óssea e fígado, causando uma infecção crônica. Nos humanos, os sinais clínicos geralmente aparecem entre dois e doze meses após a inoculação do parasita. Embora a maioria dos humanos infectados manifeste sintomas, alguns podem permanecer assintomáticos. Já nos cães, que são os principais reservatórios domésticos, indivíduos infectados podem permanecer clinicamente saudáveis por longos períodos, mantendo a capacidade de infectar o vetor e perpetuando o ciclo de transmissão (Brasil, 2023).

No Brasil, a transmissão da *Leishmania* spp. ocorre por meio do vetor e do hospedeiro vertebrado. O vetor é representado por insetos dípteros da família Psychodidae, conhecidos como flebotomíneos. O principal representante nas Américas é a *Lutzomyia longipalpis*, que continua sendo o principal vetor da leishmaniose visceral no Brasil, com ampla distribuição geográfica, incluindo áreas urbanas e rurais (Carvalho et al., 2023). Estudos indicam que essa espécie está se adaptando a ambientes urbanos, aumentando o risco de transmissão em áreas densamente povoadas (Santos et al., 2022). Esse inseto vetor (Figura 2) possui um comprimento que varia entre 1 a 3 mm, com corpo coberto por pelos e coloração castanho-claro ou cor de palha (Carvalho et al., 2023). O hospedeiro vertebrado é representado por animais silvestres (gambás, primatas, roedores, canídeos), animais domésticos (cães, gatos, equinos) e o homem. No Brasil, o cão é considerado o principal reservatório do parasita em áreas urbanas, enquanto o homem não tem importância significativa como reservatório (Brasil, 2023).

As formas promastigotas do parasita são disseminadas para o hospedeiro vertebrado após a picada durante o repasto sanguíneo de um vetor flebotomíneo infectado. No hospedeiro vertebrado, os parasitas podem ser fagocitados por células do sistema fagocítico-mononuclear e convertidas em formas amastigotas, que se multiplicam e podem levar ao rompimento da célula infectada e posterior propagação, infectando outras células (Figura 3) (Chakraborty et al., 2022).

Figura 2- Vetor flebotomíneo



Fonte: FIOCRUZ. Vetor flebotomíneo. 2019.

Figura 3– Representação do ciclo de vida de *Leishmania*.



Fonte: Elaborado pela autora com ilustrações disponíveis em < https://app.biorender.com//>.

1.4 Formas clínicas da doença

A diversidade das formas clínicas das leishmanioses deve-se à espécie do parasita, ao vetor, aos fatores ambientais e sociais, ao *background* genético, ao estado nutricional e à imunocompetência do hospedeiro (Costa-da-Silva et al., 2022). As leishmanioses se manifestam em três formas principais: Leishmaniose cutânea, Leishmaniose Mucocutânea e Leishmaniose Visceral. (OPAS, 2024). A LC, mais recorrente, evidencia-se por lesões ulceradas na pele que variam em número de lesões e tamanho, podendo deixar cicatrizes permanentes e causar consequências na qualidade de vida do paciente. A LM, mais rara e grave, ocorre principalmente pela infecção com *L. braziliensis*, quando o parasita se espalha para as mucosas nasais e orais, provocando destruição progressiva dos tecidos de mucosas e deformidades faciais (OPAS, 2024).

Segundo Silva et al. (2023), a leishmaniose visceral pode apresentar manifestações sistêmicas graves, como pancitopenia e esplenomegalia, indicando a sobreposição entre diferentes formas clínicas da doença. Em humanos, observa-se acometimento de órgãos internos, como fígado, baço e medula óssea, resultando em sintomas característicos, incluindo febre prolongada, anemia, emagrecimento e aumento abdominal, sendo potencialmente fatal na ausência de tratamento adequado. Nos cães, a LV manifesta-se tanto por sinais sistêmicos, como perda de peso e fraqueza, quanto por lesões cutâneas, além do aumento de órgãos internos. Esses animais, especialmente quando assintomáticos ou com sinais leves, desempenham papel central na manutenção do ciclo epidemiológico da doença. Dessa forma, o controle da leishmaniose visceral requer uma abordagem integrada, que inclua o diagnóstico e tratamento dos casos humanos e o manejo dos reservatórios animais (OPAS, 2024).

1.4.1 Leishmaniose Cutânea

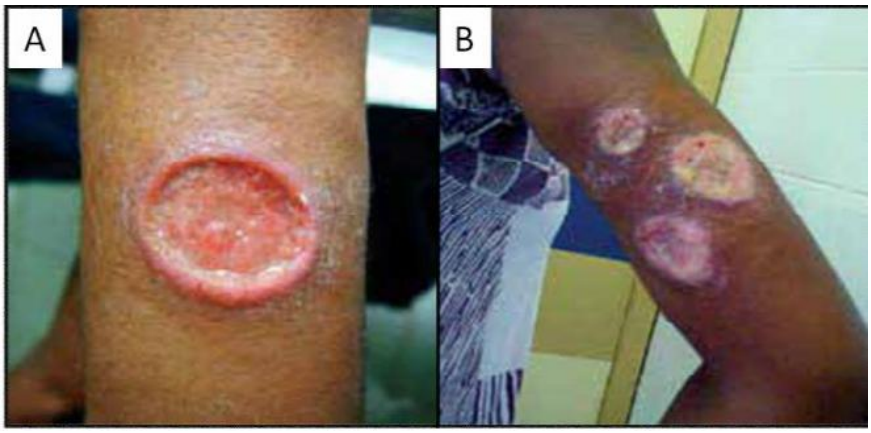
A LC permanece como um desafio importante para a saúde pública no Brasil, com variações epidemiológicas marcantes entre as regiões. Estudos recentes evidenciam a persistência e, em alguns casos, o aumento da incidência da doença em estados como Piauí (Silva et al., 2024), Pernambuco (Souza & Andrade, 2023), Minas Gerais (Pereira et al., 2023) e Goiás (Santos & Lima, 2024). Esses dados ressaltam a necessidade de estratégias regionais específicas para o controle e prevenção da LC (Figura 4).

As terapias medicamentosas como miltefosina, pentoxifilina, Anfotericina B lipossomal, termoterapia e tamoxifeno têm mostrado eficácia comparável ao tratamento padrão, com menor toxicidade e melhor adesão dos pacientes. Esses tratamentos emergentes oferecem novas perspectivas para o manejo da doença, especialmente em casos refratários ou com

contraindicações aos antimoniais (Barros et al., 2024). Com relação do diagnóstico, embora métodos tradicionais como a microscopia direta e a cultura ainda sejam amplamente utilizados, há um movimento crescente em direção a técnicas mais sensíveis e específicas. Destaca-se o papel da biologia molecular e dos imunoensaios como ferramentas promissoras para a detecção precoce e precisa da infecção (Oliveira et al., 2024).

Dessa forma, embora ocorram os avanços recentes no tratamento e diagnóstico da LC pode-se perceber a persistência da doença em várias regiões brasileiras indicando a necessidade contínua de investimentos em pesquisa, desenvolvimento de novas terapias e fortalecimento das políticas públicas de saúde para o controle efetivo da doença.

Figura 4 – Leishmaniose cutânea com manifestação de lesão ulcerada. (A) Manifestação única. (B) Manifestações múltiplas.



Fonte: BRASIL. Fundação Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro: Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, 2009.

1.4.2 Leishmaniose Mucocutânea

A leishmaniose mucocutânea é uma forma de evolução da leishmaniose tegumentar, resultante da disseminação hematogênica ou linfática dos patógenos para as membranas mucosas. A infecção pode ocorrer simultaneamente à lesão cutânea primária ou manifestar-se anos depois, com relatos de casos surgindo até uma década após a cicatrização da lesão inicial. Essa forma da doença pode se assemelhar a lesões de outras condições, o que muitas vezes dificulta um diagnóstico precoce (Santos et al., 2024).

Pacientes acometidos com essa forma da doença podem ter prejuízos significativos, incluindo dificuldades na ingestão alimentar, respiratórias e para deglutição, além de comprometimento da fala (Figura 5). A aspiração de partículas alimentares pode evoluir para pneumonia por aspiração. A presença de superinfecção bacteriana nas lesões aumenta o risco de evolução para sepse. Do ponto de vista psicossocial, os pacientes frequentemente enfrentam estigmatização e exclusão social. Mesmo após a resolução do quadro infeccioso, podem persistir deformidades faciais, com cicatrizes marcantes e comprometimento funcional, frequentemente exigindo cirurgia reconstrutiva (Santos et al., 2024).

Figura 5 – Úlceras oriundas de leishmaniose mucocutânea com secreção purulenta abundante e necrose na região malar esquerda e lábio superior. Lesão infiltrada e erosada na mucosa do palato duro. Presença de fístula com secreção purulenta



Fonte: Velozo et al. (2006), adaptado de leishmaniose mucosa fatal em criança. Anais Brasileiros de Dermatologia, 81(3), 255-259.

1.4.3 Leishmaniose Visceral

Na epidemiologia da leishmaniose visceral, o cão é considerado o principal reservatório doméstico e a espécie mais frequentemente infectada. Embora humanos e outros animais também possam ser acometidos, os cães desempenham papel central na manutenção do ciclo de transmissão, pois podem hospedar o parasita em órgãos internos e pele em quantidade suficiente para infectar o vetor. Em humanos, a LV manifesta-se de forma sistêmica grave, caracterizada por febre prolongada, perda de peso e acometimento de órgãos internos, como fígado, baço e medula óssea (OPAS, 2019).

Nos seres humanos, a LV manifesta-se por um período de incubação que pode variar de 2 semanas a até 8 meses. Seu início pode ocorrer de forma aguda ou insidiosa e, na ausência de tratamento adequado, pode ser fatal. Os sinais clínicos incluem febre irregular, hepatomegalia, esplenomegalia, pancitopenia, perda de peso, hiperpigmentação da pele e, em casos graves, desnutrição em virtude da elevada carga parasitária (Burza et al., 2018). Além disso, em alguns casos, a LV pode estar associada a comorbidades, o que aumenta o risco de complicações graves (França et al., 2021).

A fase aguda da leishmaniose visceral caracteriza-se pelo início da sintomatologia, que pode variar de paciente para paciente. No exame físico, o baço frequentemente apresenta-se aumentado, podendo ultrapassar 5 cm abaixo do rebordo costal esquerdo, dependendo da intensidade da infecção (Figura 6). Frequentemente, esses pacientes procuram atendimento médico já utilizando antimicrobianos sem resposta clínica satisfatória e podem apresentar história de tosse e diarreia (Silva; Pereira; Cunha, 2020).

Figura 6 – Paciente com Leishmaniose Visceral.



Fonte: SILVA, Thaís Bruna Ferreira da. *Aspectos clínicos e laboratoriais na leishmaniose visceral americana*. 2018.

1.5 Tratamento das Leishmanioses

O tratamento medicamentoso disponibilizado pelo SUS baseia-se, principalmente, no uso do antimoniato de N-metil-glucamina (Glucantime®), administrado por via parenteral. Apesar de ser o fármaco de primeira escolha, seu uso está associado a alta toxicidade sistêmica, efeitos adversos graves (como pancreatite, hepatotoxicidade e alterações cardíacas) e falhas terapêuticas em áreas endêmicas, especialmente devido à resistência crescente de algumas cepas de *Leishmania* (Sousa et al., 2021; Almeida et al., 2022).

Como alternativas, são empregados derivados anfotéricos como a Anfotericina B deoxicolato e sua formulação Lipossomal, além da Pentamidina isetionato, indicadas em casos de contraindicação aos antimoniais, gestação, imunossupressão ou falha terapêutica prévia. A Anfotericina B Lipossomal, apesar de apresentar melhor perfil de segurança, tem custo elevado e demanda administração hospitalar com monitoramento rigoroso da função renal, hepática e dos eletrólitos, o que limita sua utilização em larga escala em regiões com infraestrutura precária (Souza et al., 2023; OMS, 2022).

O Sistema Único de Saúde (SUS) oferece tratamento específico e gratuito para as diferentes formas de leishmaniose, utilizando medicamentos padronizados conforme protocolos do Ministério da Saúde. A notificação compulsória e a confirmação laboratorial dos casos são etapas fundamentais para a vigilância epidemiológica e o controle da doença, realizadas por meio do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), o que possibilita o monitoramento da distribuição e do impacto das ações terapêuticas no território nacional (Brasil, 2021).

Nos últimos anos, a Miltefosina foi incorporada como uma importante inovação terapêutica. Trata-se do primeiro fármaco oral eficaz contra a (LV) e, em alguns casos, (LC). Seu mecanismo envolve a interferência na biossíntese de fosfolipídios e esteróis da membrana parasitária, levando à apoptose de promastigotas e amastigotas. Entretanto, sua eficácia varia conforme a espécie e a região geográfica, e há relatos de resistência emergente associada ao uso irregular ou monoterapia prolongada (Fernandes et al., 2022; Oliveira et al., 2024).

Atualmente, investiga-se o uso de terapias combinadas, como miltefosina associada à Anfotericina B Lipossomal ou Pentamidina associada a compostos antioxidantes, com o objetivo de reduzir o tempo de tratamento e minimizar toxicidade (Barros et al., 2024; Chagas et al., 2023). Além disso, estudos recentes destacam o potencial de nanotecnologias farmacêuticas, como nanopartículas lipídicas e poliméricas, que podem otimizar a entrega de fármacos diretamente aos macrófagos infectados, melhorando a eficácia e reduzindo os efeitos colaterais (Moreira et al., 2023; Costa et al., 2024).

Os produtos naturais continuam sendo uma promissora fonte de novos agentes antileishmania. Diversos compostos extraídos de plantas, como terpenoides, alcaloides e flavonoides, têm demonstrado efeitos citotóxicos seletivos sobre amastigotas e promastigotas, além de potenciais ações imunomoduladoras, reforçando o papel da pesquisa fitoquímica no desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas (Santos et al., 2021; Lima et al., 2024).

Apesar dos avanços, o tratamento da leishmaniose ainda enfrenta desafios significativos, como o número limitado de opções terapêuticas, os custos elevados, a necessidade de regimes longos e a falta de formulações pediátricas e de fácil administração. O fortalecimento da pesquisa translacional, o investimento em inovação farmacêutica e a ampliação do acesso a terapias seguras e eficazes são medidas fundamentais para o controle da doença no Brasil e em outros países endêmicos.

1.6 Produtos naturais

As plantas medicinais contêm substâncias que, quando administradas a seres humanos ou animais, exercem efeito terapêutico servindo como precursoras de drogas semissintéticas. Consideradas uma importante fonte de recursos naturais com diversas aplicações, compostos como alcaloides, fenólicos, terpenos e flavonoides têm sido objeto de estudos biológicos, incluindo pesquisas com atividade antileishmania (Santos et al., 2023; Lima et al., 2022; Ferreira et al., 2023).

No Brasil, o Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF) tem proposto a ampliação das opções terapêuticas e avanço da atenção à saúde aos usuários do SUS. Essa ação, tem promovido o acesso seguro e o uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos, sendo um incentivo para o uso sustentável da biodiversidade, o desenvolvimento da cadeia produtiva e da indústria nacional (Brasil, 2024).

Pesquisas com substâncias naturais tem demonstrado compostos promissores no combate a leishmaniose. Um exemplo é a planta amazônica *Platonia insignis Mart*., conhecida por seu uso na medicina popular, da qual foi isolada a *Garcinielliptone FC* (GFC) que é uma benzofenona poliprenilada. O seu efeito biológico foi investigado contra formas promastigotas e amastigotas internalizadas por macrófagos. Os resultados demonstram que a GFC é capaz de promover a inibição do crescimento *in vitro* de amastigotas e promastigotas intracelulares. Além disso, o pré-tratamento de macrófagos ou promastigotas com GFC diminuiu significativamente o número de macrófagos infectados e de amastigotas recuperadas. Esses achados confirmam seu potencial terapêutico em modelos experimentais *in vivo* de leishmaniose (Bezerra et al., 2020).

Nesse contexto destaca-se como outro exemplo com importante atividade antileishmania a *Aniba riparia*, cujo composto, denominado como Rip-E, apresentou capacidade de inibir o crescimento de formas promastigotas (CI_{50} 4,7 μg/mL) e reduzir a porcentagem de macrófagos infectados com amastigotas, diminuindo assim a infectividade. Adicionalmente, Rip-E demonstrou atividade imunomoduladora evidenciada pelo aumento da capacidade fagocítica e atividade lisossomal dos macrófagos. Esses resultados em conjunto indicam que Rip-E possui potencial antileishmania, tanto pelo seu efeito inibitório direto quanto pela sua capacidade de ativar macrófagos (Costa et al., 2021).

De forma semelhante, os estudos com ácido betulínico e seus derivados semissintéticos demonstraram relevância por seu evidenciado efeito antileishmania. As pesquisas apontam que compostos derivados do ácido betulínico, apresentam ações citotóxicas seletivas contra formas promastigotas de diversas espécies de *Leishmania* dentre elas *L. amazonensis*, *L. major*, *L. braziliensis* e *L. infantum* mediante mecanismos que envolvem o ciclo celular, indução de apoptose e alterações morfológicas nos parasitos, além de potencial sinergismo com a Anf B (Silva et al., 2020). Adicionalmente, estudos envolvendo o 2,3-dihidrobenzofurano, classificado como neolignana, também demonstram ação antileishmania, elucidando ações inibitórias sobre *L. amazonensis* (Oliveira, 2014).

Estudos conduzidos por Alves et al., (2021) com ácidos gálico e elágico, compostos fenólicos caracterizados por suas propriedades bioativas evidenciam importante efeito antimicrobiano e antiparasitário, indicando o potencial desses compostos como promissores agentes antileishmania em cepas de *Leishmania amazonensis*. De forma adicional, apresentam baixa toxicidade em células do hospedeiro, o que manifesta sua viabilidade para o desenvolvimento de novas terapias contra a leishmaniose, especialmente considerando as limitações dos tratamentos tradicionais.

Portanto, diante dos exemplos apresentados, evidencia-se a necessidade de novas terapias farmacológicas para o tratamento da leishmaniose, incluindo o desenvolvimento de compostos eficazes *in vitro* contra formas promastigotas e amastigotas internalizadas por macrófagos. Nesse sentido, substâncias naturais e seus derivados semissintéticos despontam como candidatos potenciais para futuras intervenções farmacológicas, reforçando a importância de investimentos contínuos em pesquisa e inovação no combate à doença.

1.7 Família Bignoniaceae

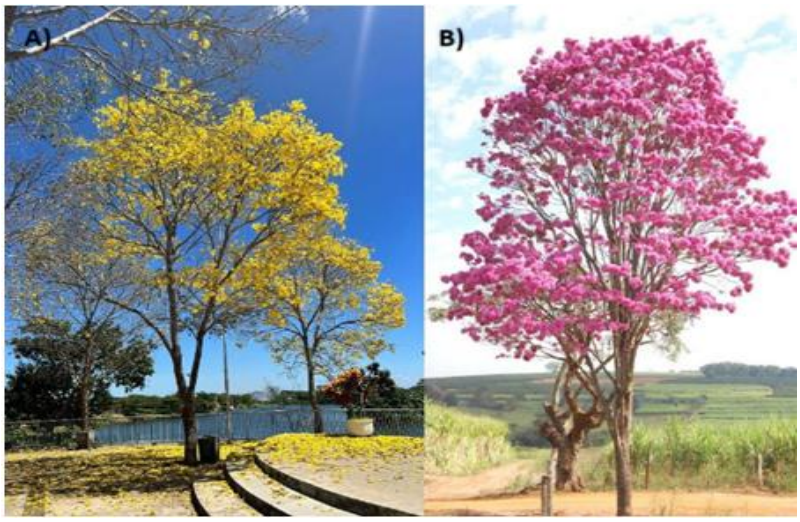
A família Bignoniaceae é composta aproximadamente por 85 gêneros e mais de 800 espécies, incluindo árvores, arbustos e lianas, encontradas em evidência nos climas tropicais e subtropicais sendo estes especialmente na América do Sul, onde muitas espécies possuem valor ecológico, ornamental e medicinal (Silva et al., 2023; Martins & Oliveira, 2024).

Espécies da família Bignoniaceae são reconhecidas por sua importância ecológica e econômica. Além de sua utilização ornamental devido à beleza de suas flores, essas plantas também têm sido valorizadas pela presença de compostos químicos bioativos, como quinonas, flavonoides, alcaloides e lactonas que contém propriedades medicinais relevantes, incluindo atividades anti-inflamatórias, antimicrobianas, antitumorais, antioxidantes e antiparasitárias (Costa et al., 2023; Pereira et al., 2024).

Destaca-se em espécies nativas, o gênero *Tabebuia* (ipê), muito utilizado em programas de reflorestamento, onde a propagação da planta ocorre via sementes, sendo cada vez mais estudado para fins terapêuticos. No contexto da leishmaniose, estudos recentes destacam o potencial terapêutico de espécies dessa família. O ipê-roxo, conhecido popularmente como ipê-roxo-de-sete-folhas, é uma espécie arbórea e é encontrada em todo o território brasileiro (Fernandez e Cock, 2020). O *Handroanthus impetiginosus* (ipê-roxo) tem sido estudada por suas propriedades farmacológicas, incluindo atividade antileishmania, reforçando a importância da investigação de extratos naturais como fontes promissoras para o desenvolvimento de novos tratamentos contra a leishmaniose (Almeida et al., 2023). Estudos apontam que o extrato do caule dessa espécie possui propriedades anti-inflamatórias, antimicrobianas, diuréticas e anticarcinogênicas. Além disso as flores são tradicionalmente utilizadas devido às suas atividades antissépticas e adstringentes (Ahmad et al., 2020).

Outro exemplo pertencente à família Bignoniaceae é o *Handroanthus serratifolius* conhecida popularmente como ipê-amarelo, uma revisão bibliográfica observou que as espécies de ipê amarelo possuem atividades antibacteriana, antinociceptiva, antifúngica, anti-inflamatória, antiparasitária, citotóxica, antileishmania e antiplasmoide, e que essas atividades podem ser encontradas em extratos de folhas e caules. Plantas da família Bignoniceae, são estudadas continuamente, devido à presença de metabólitos secundários (Macedo et al., 2022).

Figura 7 – Plantas de *Handroanthus serratifolius* e *Tabebuia avellanedae* em sua forma florida



Fonte: Do lago, A. et al. O uso das cores das árvores como indicativo de sazonalidade: (*Handroanthus* spp.) no Distrito Federal. *Observatório Latinoamericano*, v. 10, n. 2, p. 54–66, 2024.

1.8 Derivados Quinolônicos como alternativa terapêutica

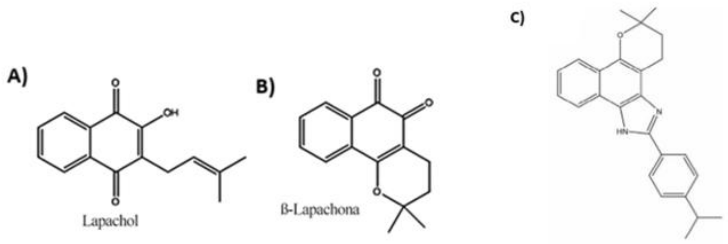
Os compostos quinolônicos constituem uma classe importante de moléculas orgânicas heterocíclicas diferenciadas pela presença do núcleo quinolona, composto pela união de um anel benzênico e um anel piridinona. Essa estrutura proporciona a esses compostos propriedades farmacológicas variadas, evidenciando principalmente o efeito antibacteriano. O mecanismo de ação dos quinolônicos baseia-se na inibição das enzimas DNA girase e topoisomerase IV, fundamentais para os processos de replicação e transcrição do DNA bacteriano, ocasionando a interrupção da multiplicação dos patógenos. Além dessa atividade antimicrobiana, estudos recentes apontam para um potencial terapêutico ampliado, com efeitos anti-inflamatórios (Patel et al., 2018), antivirais (Kim et al., 2019), antitumorais (Zhang et al., 2019) e imunomoduladores, tornando os compostos quinolônicos promissores para o desenvolvimento de novas drogas frente à crescente resistência bacteriana e outras condições clínicas. (Dine et al., 2023).

Nesse contexto, dos compostos naturais com propriedades farmacológicas relevantes, destaca-se o lapachol, uma naftoquinona extraída da casca do ipê (*Tabebuia* spp., Bignoniaceae) que compartilha com as quinolonas a presença do grupo quinona em sua estrutura química, correlacionando-se com a geração de espécies reativas de oxigênio (ERO) e à indução de danos celulares em microrganismos e células tumorais (Pinho et al., 2018; Silva et al., 2021). Este composto destaca-se por apresentar atividades farmacológicas, com ênfase

em seu efeito antileishmania (Araújo et al., 2019; Briones Nieva et al., 2021). As características lipofílicas facilitam a sua penetração na bicamada lipídica de membranas celulares e, consequentemente, estes compostos indicam potencial para produzir alterações importantes nas células e na estrutura da membrana mitocondrial de diferentes patógenos, modificando assim sua integridade e permeabilidade (Tabosa et al., 2018; Lopes et al., 2021).

Essas atividades são atribuídas à estrutura química do núcleo quinolínico, presente em diversos compostos naturais e sintéticos, que confere a eles a capacidade de interagir com múltiplos alvos celulares, modulando processos e oferecendo um amplo espectro de efeitos farmacológicos (Figura 8). Dessa forma, a investigação de derivados quinolínicos continua sendo promissora para o desenvolvimento de novas terapias contra doenças infecciosas e condições patológicas complexas.

Figura 8 – Representação esquemática da fórmula estrutural: (A) Lapachol (B) β-Lapachona e (C) SD4 NIMZ4 – 4,5-dihydro-6,6-dimethyl-6H-2-(4-isopropylphenyl) - pyran[b- 4,3]naphth[1,2-d]imidazole, composto sintetizado do lapachol.



Fonte: Wisintainer, Gabrielle G. N. S. et al. **Biflorin: An o-naphthoquinone of clinical significance**. *Chemico-Biological Interactions*, v. 222, p. 124–132, 2014.

As naftoquinonas naturais e sintéticas demonstram atividade antiparasitária, na maioria dos casos, evidenciando resultados promissores comparados aos medicamentos atuais utilizados em ensaios clínicos, nota-se que modificações químicas na estrutura com diferentes grupos funcionais podem aumentar os seus efeitos biológicos, otimizar a solubilidade e reduzir efeitos secundários indesejáveis (Ortiz-Pérez et al., 2021).

Em um estudo de meta-análise realizado por Srinivasa et al., 2022 o lapachol (Figura 8) demonstrou ser um dos metabolitos secundários das plantas com benefícios terapêuticos. Entretanto, devido ao seu isolamento de fontes naturais ser dispendioso, tem-se explorado outras fontes. A bioprospecção do lapachol a partir de fungos endofíticos tem sido avaliado

por vários pesquisadores. A meta-análise mostrou que, dentre os endófitos explorados, os fungos *Aspergillus niger* e *Alternaria alternata* juntamente com outros fungos endofíticos filamentosos são produtores de lapachol.

Nesse contexto, a molécula β-lapachona também é um constituinte do ipê e um dos métodos mais utilizados para a obtenção desta quinona a partir do ipê é realizada pela extração do seu isômero, o lapachol, e sua conversão deste na orto-naftoquinona. O lapachol é a naftoquinona mais abundante extraída de espécies de *Tabebuia* e representa de 3 a 7% da composição do material lenhoso do vegetal, a depender da espécie, o que justifica a escolha por se obter a partir do lapachol (Gomes et al., 2021).

Araújo et al., 2019 avaliou a eficácia do derivado da β-lapachona em comparação ao lapachol no tratamento da LV e LC, e os resultados *in vitro*, demostraram atividade antileshmania moderada contra a *L. amazonensis* e a *L. infantum*, indicando na citometria de fluxo seu efeito citotóxico por apoptose em promastigotas de leishmania, já os resultados *in vivo*, mostraram que o lapachol foi capaz de reduzir a carga parasitária significativamente nas lesões de pele, fígado e baço, quando comparados ao grupo β-lapachona, tendo como controle a Anf B. As naftoquinonas lapachol e β-lapachona em baixas concentrações apresentaram atividade significativa contra formas promastigotas e amastigotas de *L. amazonensis*.

Apesar dos avanços e descobertas promissoras com o derivado destes compostos, existem lacunas no entendimento do mecanismo de ação e na eficácia desses compostos, exigindo mais investigações para esclarecer seus efeitos específicos e possíveis efeitos colaterais. Considerando a crescente resistência aos tratamentos convencionais com medicamentos inclusos no mercado, as naftoquinonas e quinonas derivadas de *H. serratifolius* (Figura 08) apresentam-se como candidatas potenciais para o desenvolvimento de novos fármacos. Compostos provenientes de fontes naturais podem servir como protótipo para o desenvolvimento de uma nova geração de compostos com melhores propriedades farmacocinéticas, tais como, aumento da eficácia, estabilidade e diminuição dos efeitos colaterais (Ottoni et al., 2020).

1.9 Moléculas Sintéticas

O desenvolvimento de moléculas sintéticas e semissintéticas representa uma estratégia fundamental na inovação de novos fármacos, especialmente no enfrentamento de doenças negligenciadas, como as leishmanioses. Embora os produtos naturais historicamente desempenhem um papel crucial na descoberta de agentes terapêuticos, muitos apresentam limitações que comprometem sua aplicação clínica, como baixa solubilidade, instabilidade química, efeitos tóxicos ou dificuldades na obtenção em larga escala (Santos et al., 2021; Ferreira et al., 2022).

O interesse com síntese de moléculas com potencial terapêutico na química medicinal moderna tem traçado novas perspectivas para o desenvolvimento de fármacos inovadores. A capacidade de projetar e produzir compostos sintéticos permite a formação de fármacos com propriedades específicas, como maior estabilidade, biodisponibilidade e seletividade, além de possibilitar a modificação de estruturas naturais para aprimorar sua eficácia e minimizar efeitos adversos (Sharifi, 2023). O crescente desafio da resistência bacteriana impulsiona a síntese de antibióticos sintéticos em busca de novas estruturas químicas, capazes de combater bactérias multirresistentes, destacando-se os análogos de β-lactâmicos e peptídeos sintéticos (Smith & Jones, 2021).

A síntese química surge como uma abordagem promissora, permitindo a modificação racional de estruturas naturais para a obtenção de compostos com propriedades farmacológicas aprimoradas, maior seletividade, melhor perfil de segurança e viabilidade produtiva (Newman & Cragg, 2020; Atanasov et al., 2021). Além disso, a síntese possibilita explorar novas estruturas químicas que não existem na natureza, ampliando o arsenal terapêutico disponível (Harvey, Edrada-Ebel & Quinn, 2015).

No contexto das doenças parasitárias, como a leishmaniose, essa estratégia se mostra ainda mais relevante, visto que os tratamentos atuais são limitados, apresentam toxicidade significativa e enfrentam o crescente problema da resistência parasitária. Assim, a geração de moléculas sintéticas derivadas de compostos bioativos naturais não apenas potencializa os efeitos terapêuticos, como também contribui para o desenvolvimento de alternativas seguras, eficazes e acessíveis para a população (Newman & Cragg, 2020; Atanasov et al., 2021).

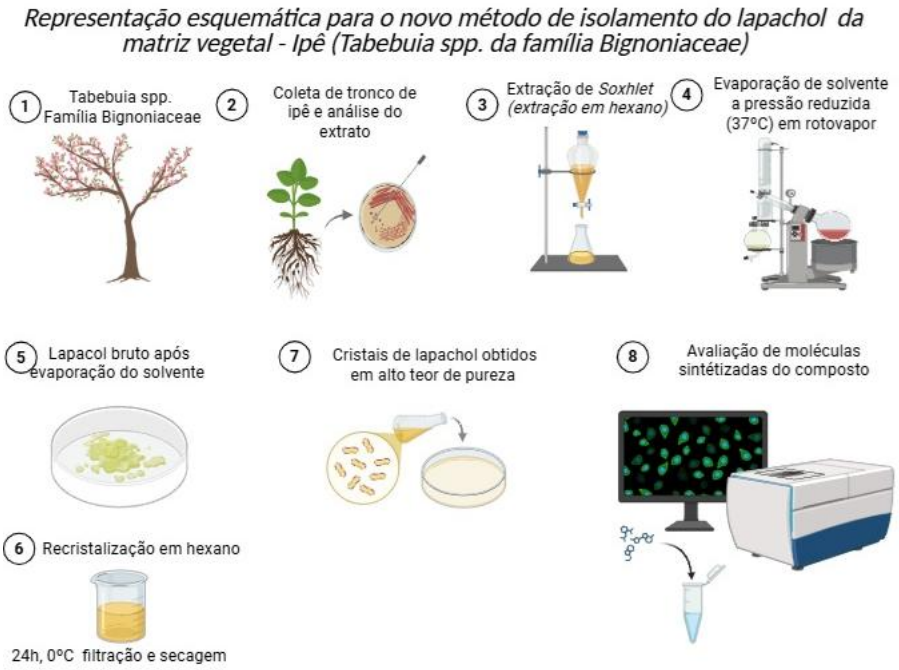
1.9.1 Composto SD4

As moléculas semissintéticas derivadas de compostos naturais, como a β-lapachona, configuram uma estratégia relevante no desenvolvimento de novos fármacos, permitindo aprimorar propriedades farmacológicas, como aumento da eficácia, seletividade e redução da toxicidade (Silva et al., 2019; Santos et al., 2021). A β-lapachona é uma naftoquinona isolada de espécies do gênero *Tabebuia*, reconhecida por apresentar diversas atividades biológicas, incluindo ação antimicrobiana, antiparasitária e antitumoral (Fonseca *et al*., 2020; Ferreira *et al.*, 2022). Derivados quinônicos, como o epoxy-α-lapachona, já demonstraram ação antileishmania significativa tanto *in vitro* quanto *in vivo*, atuando sobre formas promastigotas e amastigotas de *Leishmania amazonensis* e *Leishmania braziliensis*, além de modularem a resposta imunológica do hospedeiro (Silva et al., 2018; Costa et al., 2020).

A β-lapachona (Figura 9) desde os primeiros relatos é evidenciado como a quinona mais abundante na família Bignoniaceae. Nesse contexto, o composto sintético SD4, um derivado sintético da β-lapachona foi desenvolvido por meio de técnicas de síntese orgânica, o SD4 demonstrou interagir com alvos moleculares específicos em macrófagos infectados, sugerindo resposta imunológica e redução de carga parasitária. Além disso, indica capacidade de sintetizar, otimizar eficácia, estabilidade e biodisponibilidade, evidenciando a relevância das moléculas sintéticas no desenvolvimento de terapias inovadoras. Em razão de suas propriedades estruturais, elas participam de processos oxidativos biológicos, sendo a propriedade redox uma de suas características fundamentais (Zhao et al., 2024).

Diante dos desafios no desenvolvimento de novos fármacos, as moléculas sintéticas e semissintéticas representam uma estratégia promissora, especialmente por possibilitarem a modificação estrutural de compostos bioativos, visando aprimorar suas propriedades farmacológicas, aumentar a seletividade e reduzir a toxicidade. Nesse contexto, o composto SD4, um derivado quinônico semissintético obtido a partir da β-lapachona, foi selecionado para este estudo devido ao seu potencial terapêutico.

Figura 09 - Representação esquemática do processo de isolamento do lapachol a partir de *Tabebuia* spp. (família Bignoniaceae), contemplando as etapas de coleta do material vegetal, extração em Soxhlet, evaporação do solvente, recristalização, obtenção dos cristais purificados e posterior avaliação de moléculas sintetizadas a partir do composto.



Fonte: Elaborado pela autora com base em Batista *et al*. (2018), utilizando ilustrações da plataforma BioRender (https://app.biorender.com/).

2. JUSTIVICATIVA

A leishmaniose é uma doença infecciosa negligenciada que afeta milhões de pessoas principalmente em regiões tropicais e subtropicais, causando o crescimento do impacto na saúde pública, evidenciando-se países como o Brasil, onde as formas cutânea e visceral da doença apresentam-se sendo provocadas principalmente por *Leishmania brasiliensis*, *L. amazonensis* e *L. infantum*, demonstrando aumento da incidência (Costa et al., 2023). Os tratamentos disponíveis atualmente são limitados, pois apresentam toxicidade significativa, custo elevado, dificuldades na administração e elevação progressiva de cepas resistentes (Silva *et al*., 2024). Diante desse cenário, a busca por novos compostos com atividade antileishmania e melhor perfil de segurança torna-se indispensável (Costa et al., 2023).

Nesse contexto, a implementação de moléculas sintéticas ganha destaque, uma vez que a síntese química permite estruturar compostos com maior seletividade, eficácia e perfil farmacológico seletivo, além de possibilitar a modificação racional de estruturas naturais para otimizar sua atividade biológica e reduzir efeitos adversos. Os resultados poderão contribuir para o desenvolvimento racional de terapias mais eficazes e seguras, reforçando o papel estratégico das moléculas sintéticas no enfrentamento destas doenças negligenciadas.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

- Investigar o potencial terapêutico do composto quinônico SD4, por meio da avaliação de sua atividade antileishmania, citotoxicidade e capacidade de modulação da resposta imunológica.

3.2 Específicos

1. Avaliar atividade do composto SD4 contra formas promastigotas de *L. amazonensis e L. infantum*;
2. Determinar a citotoxicidade do composto SD4 em macrófagos murinos;
3. Investigar o índice de hemólise do composto SD4 em eritrócitos de carneiro;
4. Analisar a toxicidade do composto SD4 em larvas de *Tenebrio molitor*;
5. Avaliar a infecção e infectividade por *L. amazonensis* e *L. infantum* em macrófagos murinos tratados com o composto SD4;
6. Determinar o índice de seletividade do composto SD4;
7. Avaliar a indução de síntese de óxido nítrico por macrófagos tratados com o composto SD4;
8. Investigar a capacidade fagocítica e volume lisossomal de macrófagos tratados com o composto SD4.

4.0 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Parasitas, preparação celular e condições de cultivo

Foram utilizadas cepas de *Leishmania infantum* (MHOM/5745) e *Leishmania amazonensis* (IFLA/BR/67/PH8) para avaliação da atividade antileishmania. As formas promastigotas foram cultivadas em meio de Schneider suplementado (10% de soro fetal bovino (SFB), 100 U/mL de penicilina e 100 µg/mL de estreptomicina), incubadas em estufa de demanda biológica de oxigênio (B.O.D). a 26 °C. Foram coletados macrófagos murinos da cavidade peritoneal de camundongos BALB/c, machos e fêmeas (4 a 5 semanas de idade), após elicitação prévia (72 h) pela administração de 2 mL de solução contendo tioglicolato a 3% em salina tamponada com fosfato (PBS) por via intraperitoneal. Os animais foram provenientes do Biotério Central e mantidos no Biotério Setorial do Núcleo de Pesquisas em Plantas Medicinais (NPPM/UFPI). Foi coletado sangue de carneiro (9 meses de idade) do Centro de Ciências Agrárias (CCA/UFPI) localizado em Teresina, PI, Brasil. Todos os protocolos foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal (CEEAPI nº 750/2022).

O derivado quinônico SD4 utilizado nos experimentos foi gentilmente cedido pela Prof. Dra. Marcília Pinheiro da Costa da Universidade Federal do Piauí (UFPI) e pela Profa. Dra. Cleônia Roberta Melo Araújo da Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF), colaboradoras deste projeto. A substância foi disponibilizada ao Laboratório de Atividade Antileishmania (LAA) do Núcleo de Pesquisas de Plantas Medicinais (NPPM) da Universidade Federal do Piauí, onde foi preparado uma solução estoque (10 mg/mL) diluída em dimetil sulfóxido (DMSO), sendo armazenada sob refrigeração e protegida da luz para realização dos experimentos.

4.2 Avaliação da atividade do composto SD4 contra formas promastigotas

O ensaio foi realizado com formas promastigotas de *L. amazonensis* em fase logarítmica tardia de crescimento. O derivado quinônico SD4 foi adicionado aos poços de placas de cultivo celular contendo meio Schneider suplementado, em duplicatas e realizadas diluições seriadas, atingindo oito faixas de concentrações (0,78–100µg/mL) finais desejadas. Os parasitos foram, então, semeados na quantidade de 1×10^6 leishmania/100 µL de meio. Em seguida, a placa foi incubada em estufa B.O.D. a temperatura de 26 ºC, por 48 h e, restando 6 h para o término deste período, foram adicionados aos poços 20 µL de resazurina 1×10^{-3} mol/L, sendo incubada novamente a placa. A leitura da placa foi realizada em uma leitora de

placas, no comprimento de onda de 550 nm, e os resultados foram expressos em termos de inibição do crescimento (%).

Foi utilizado no ensaio como controle positivo a Anfotericina B (Anf B) na concentração de 2 μg/mL. Para o controle negativo, foi utilizado meio Schneider contendo 1×10^6 promastigotas por poço e, neste caso, a viabilidade é considerada como 100% para o parasito. A leitura do branco, para cada concentração e para os controles fez-se necessária para desprezar a absorbância resultante do próprio meio com interferência ou não das substâncias estudadas (Soares et al., 2007; Valadares et al., 2011). A concentração inibitória média (CI_{50}) com limite de confiança de 95%, foi calculada utilizando regressão de probitos.

4.3 Determinação da citotoxicidade do composto SD4 em macrófagos murinos

Em placa de 96 poços foram incubados $2x10^5$ macrófagos por poço em 100 μL de meio (suplementado com 10% de SFB e 10.000 UI de penicilina e 1.000 UI de estreptomicina) em estufa a 37 °C e 5% de CO_2, durante 4 h para a adesão celular. Após esse período retirou-se o sobrenadante para remoção das células que não aderiram. O composto SD4 foi diluído em meio Roswell Park Memorial Institute (RPMI) suplementado, adicionadas à placa contendo os macrófagos, em concentrações seriadas atingindo oito faixas de concentrações finais (0,78 a 100,00 $\mu g/mL^{-1}$), e incubados a 37 ºC e 5% de CO_2 durante 48 h. Após esse período, a citotoxicidade foi avaliada por adição de 10% de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolium brometo (MTT) [5 mg/mL] diluído em 100 μL de meio RPMI e incubou-se novamente a placa durante 4 h a 37 ºC e 5% de CO_2. Após essa etapa, o sobrenadante foi descartado e adicionado 100 μL de DMSO e manteve-se por 30 min sob agitação. Finalmente, a absorbância (550 nm) foi medida utilizando uma leitora de placa. O índice de seletividade de cada tratamento foi calculado dividindo a concentração citotóxica média (CC_{50}) observada para macrófagos pela concentração inibitória média (CI_{50}), calculada para as formas amastigotas do parasito (Andrade *et al*., 2018; Dutta et al., 2012).

4.4 Investigação do índice de hemólise do composto SD4 em eritrócitos de carneiro

Para os testes de avaliação hemolítica, diluiu-se 5 mL de sangue de carneiro em 80 μL de PBS (concentração de hematócrito para 5% das hemácias). Adicionou-se o composto quinônico SD4 à amostra de sangue e oito faixas de concentração finais foram alcançadas (0,78–100 μg/mL), diluído em 20 μL de PBS. Em seguida, a mistura foi incubada a 37 ºC por 1 hora e, posteriormente, foram adicionados 200 μL de PBS. Por fim, a mistura foi lida a 550 nm. Os controles foram definidos como controle negativo para a não ocorrência de hemólise,

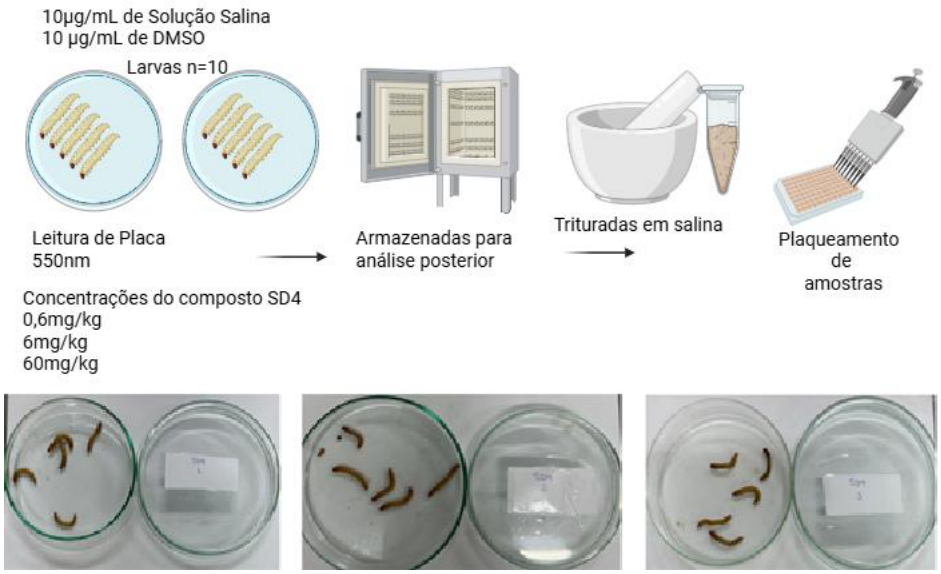
quando se utilizou PBS, e controle positivo para 100% de hemólise, quando se utilizou água Mili-Q. Os resultados da avaliação foram definidos em concentração hemolítica média (CH_{50}) e 100% de hemólise para o controle positivo, os valores são dados em % (Dias et al., 2013).

4.5 Análise da toxicidade do composto SD4 em larvas de *Tenebrio molitor*

As larvas de *T. molitor* foram obtidas do Laboratório de Fisiologia do Departamento de Morfofisiologia Veterinária da Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina-PI, Brasil (CCA/UFPI). Os besouros foram mantidos em caixas plásticas fechadas, medindo 60 x 40 x 80 cm, alimentados à vontade com farelo de trigo e vegetais, incluindo pedaços de chuchu distribuídos semanalmente como fonte de água vegetal. Eles foram mantidos em uma sala isolada a uma temperatura de 25 °C ± 2 °C, umidade relativa de 70 ± 5% e escuridão total, exceto durante o manuseio, com ventilação ideal (Azzi et al., 2024). As larvas eclodem dos ovos aos 60 dias de idade, atingindo aproximadamente 20–25 mm de tamanho e um peso médio de 150 mg (Sonmez, 2021). Larvas de coloração clara, tamanho uniforme e coloração do tegumento sem manchas foram selecionadas para os experimentos, confirmando a uniformidade das larvas utilizadas neste estudo, conforme ilustrado na Figura 10.

Para avaliar o efeito do composto SD4, foram utilizadas 5 larvas por grupo para cada concentração testada, em duplicata. O SD4 foi administrado em um volume de 10 µL por larva, nas concentrações de 0,6 mg/Kg; 6,0 mg/Kg e 60,0 mg/Kg, utilizando uma seringa Hamilton (701 N, calibre 26, capacidade de 100 µL). A aplicação foi realizada na região da hemocele no segundo ou terceiro esternito visível abaixo das patas, na porção ventral ou dorsal. Após a aplicação, as larvas foram incubadas a 33 °C em placas de Petri contendo dieta de crescimento e o número de larvas mortas foi avaliado após 24 e 48 horas após incubação (Figura 10). A mortalidade larval foi confirmada por meio de inspeção visual, além da verificação da presença de melanização e/ou respostas ao estímulo físico de toque suave (de Souza et al., 2015). Como controle positivo, foi utilizado DMSO, conhecido por induzir toxicidade e melanização por meio de mecanismos relacionados a Glutationa reduzida (GSH) e nitrito. Para o controle negativo, foi inoculado nas larvas 10 µL de solução salina no mesmo local de aplicação mencionado anteriormente (Ribeiro et al., 2023).

Figura 10 – Esquema representativo do teste realizado em larvas de *T. molitor com* substância SD4.



Fonte: O autor (2025)

4.6 Avaliação da infecção e infectividade por *L. amazonensis* e *L. infantum* em macrófagos murinos tratados com o composto SD4

Em placas de cultura de 24 poços macrófagos foram adicionadas na concentração de $2x10^5$ células por poço em 500 µL de RPMI suplementado, juntamente com lamínulas estéreis de 13 mm de diâmetro. As placas foram incubadas a 37 °C a 5% de CO_2 por 4 h para aderência dos macrófagos. Os Macrófagos aderidos foram depois incubados com promastigotas de *L. amazonensis e L. infantum* em fase estacionária de crescimento numa proporção de 10 leishmanias para cada macrófagos a 5% de CO_2 e 37 °C durante 4 h.

Na etapa seguinte, a cultura infectada foi incubada com as amostras nos valores correspondentes a aproximadamente ½ x CI_{50}; 1 x CI_{50} e 2 x CI_{50} sobre as formas promastigotas e anfotericina na concentração de 0,62 µg/mL^{-1}. Após este período, foi feita a coloração da lamínula utilizando o panótico rápido®. Para cada tratamento, contou-se o número de macrófagos infectados e a carga parasitária (índice de sobrevivência) percorrendo os campos das amostras até atingir a contagem de 100 macrófagos, utilizando microscopia óptica (Carneiro et al., 2012).

4.7 Avaliação da indução de síntese de óxido nítrico por macrófagos tratados com o composto SD4

Macrófagos peritoneais foram plaqueados na quantidade de 2×10^5 por poço numa placa de 96 poços e incubados com as amostras e realizadas diluições seriadas atingindo cinco faixas de concentrações finais (7,5 a 30,0 $\mu g/mL^{-1}$) na presença ou na ausência de formas promastigotas de *L. infantum e L. amazonensis* na concentração de $1x10^6$ por poço. Transcorrido 24 h de incubação a 37 °C e 5% de CO_2, transferiu-se os sobrenadantes do cultivo celular para outra placa de 96 poços para a dosagem de nitrito. A curva-padrão foi preparada com nitrito de sódio em meio RPMI à concentrações variadas de 1; 5; 10; 25 e 50 $\mu g/mL^{-1}$ diluídos em meio RPMI. No momento da dosagem misturou-se partes iguais das amostras (sobrenadantes) ou das soluções preparadas para obtenção da curva-padrão com o mesmo volume do reagente de Griess (1% Sulfanilamida em H_3PO_4 10% (v:v) em água Milli-Q®, adicionados em partes iguais a 0,1% naftilenodiamino em água Milli-Q®) e fez-se a porcentagem leitura das absorbâncias em leitor de placas Biotek (ELx800) a 550 nm, o resultado foi plotado de produção de nitrito (Soares et al., 2007).

4.8 Avaliação da atividade lisossomal com o composto SD4

Em placas de 96 poços foram plaqueados 2×10^5 macrófagos peritoneais por poço e incubados a 37 ºC e a 5% de CO_2 com as amostras, através de diluições seriadas atingindo cinco faixas de concentrações finais (6,25 a 100,00 $\mu g/mL^{-1}$). Após 48 h, foi adicionado 10 µL de solução de vermelho neutro a 2% de DMSO e incubados por 30 min. Descartou-se o sobrenadante e com salina 0,9% de NaCl a 37 ºC. Em seguida, os poços foram lavados para retirar o excesso do corante e logo após acrescentou-se 100 µL da solução de extração para que ocorresse o processo de solubilização do vermelho neutro das vesículas lisossomais. Após de 30 min, foi realizada a leitura da absorbância em leitora de microplacas Elx800 a 550 nm (Alves et al., 2017).

4.9 Determinação da capacidade fagocítica

Em placas de 96 poços foram plaqueados 2×10^5 macrófagos peritoneais por poço e incubados a 37 ºC e a 5% de CO_2 com as amostras, através de diluições seriadas atingindo cinco faixas de concentrações finais (6,25 a 100,00 $\mu g/mL^{-1}$). Decorrido 48 h de incubação, foi adicionado 10 µL de solução de zimosan corado e novamente foi incubada a 37 ºC por mais 30 min. Após essa etapa, para bloquear a fagocitose adicionou-se 100 µL de fixador de Baker. Salina a 0,9 % foi usada nesse momento para remoção do zimosan e do vermelho

neutro não fagocitados. Em seguida, o sobrenadante foi removido e adicionado 100 µL de solução de extração e foi realizada a leitura da absorbância em leitora de microplacas Elx800 a 550 nm (Alves et al., 2017).

4.10 Análise estatística

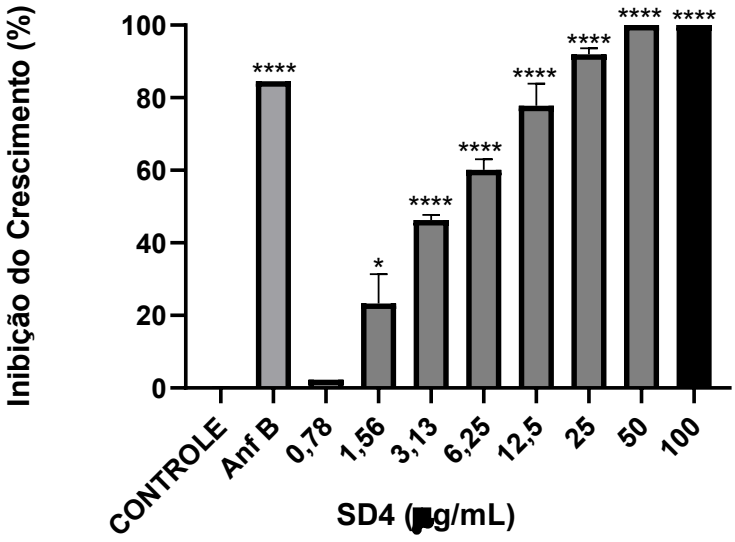
O ensaio de atividade antileishmania foram efetuados em duplicata e os de citotoxicidade foram realizados em triplicatas por pelo menos 2 experimentos independentes. A regressão de probitos foram utilizadas para determinar a concentração inibitória (CI_{50}) e concentração citotóxica média (CC_{50}) com limite de confiança de 95%. Foram realizadas análises de variância ANOVA, seguida pelo teste Bonferroni, considerando-se o valor de p <0,05 como nível máximo de significância estatística. O índice de seletividade foi calculado dividindo a CC_{50} pela CI_{50}. Foram realizadas análises de variância ANOVA seguida pelo teste de Bonferroni, tomando-se o valor de $p < 0,05$ como nível máximo de significância estatística.

5.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Atividade antileishmania do composto quinônico SD4 sobre formas promastigotas de *L. amazonensis*

O teste avaliou a eficácia do composto quinônico SD4 para a inibição de formas prosmatigotas de *L. amazonensis,* pois é o estágio extracelular do parasita causador da leishmaniose. O ensaio realizado no presente estudo utilizou diferentes concentrações do composto SD4 de 0,78 a 100 µg/mL no tempo de 48 horas, de acordo com protocolos padronizados para ensaios *in vitro*, a fim de permitir a adequada mensuração da viabilidade celular (Figura 11).

Figura 11 – Efeito do composto SD4 sobre formas promastigotas de *L. amazonensis*. Exposição dos parasitas (1 x 10^5) por 48 horas a diferentes concentrações das substâncias. Viabilidade celular avaliada pela ação da Resazurina®.



Fonte: O autor (2025)

Analisando a concentração mais baixa (0,78 µg/mL) observou-se efeito inibitório reduzido (cerca de 10-20%), evidenciando que o composto não possui capacidade para bloquear o crescimento nesta concentração. Adicionalmente, em concentrações intermediarias como (3,12-12,5 µg/mL) demonstrou um aumento progressivo na inibição, com valores próximos de 50-80% de inibição de crescimento, sugerindo que com estas concentrações, as doses resultaram no comprometimento do crescimento das promastigotas. A inibição indica ser significativa a partir de 3,12 µg/mL, sugerindo esta ser a dose mínima eficaz contra o parasita. Nas concentrações mais altas (50-100 µg/mL) a inibição atinge uma concentração em torno de 100%, sugerindo que a molécula sintetizada SD4 atingiu sua capacidade máxima de inibição nessa concentração.

No contexto de compostos bioativos frente ao parasita, Ramos-Milaré et al. (2023) avaliaram a atividade antileishmania de duas naftoquinonas, lapachol e β-lapachona, observando inibição significativa do crescimento parasitário. O lapachol foi testado nas concentrações de 82,28; 41,14 e 20,57 µg/mL, enquanto a β-lapachona foi avaliada em 3,26; 1,63 e 0,815 µg/mL contra *L. amazonensis* internalizadas em macrófagos peritoneais de camundongos BALB/c. Os resultados mostraram que o lapachol apresentou efeito dose-dependente, inibindo a sobrevivência parasitária em 83,11%, 57,59% e 34,95%, respectivamente. Já a β-lapachona, mesmo em concentrações menores, apresentou atividade mais consistente e potente, com inibição de 78,49%, 83,25% e 80,22%. Além disso, foram observadas alterações morfológicas e funcionais nas formas promastigotas, confirmando a ação antileishmania dessas naftoquinonas.

Adicionalmente, foi observado que a exposição das formas promastigotas a essas naftoquinonas promoveu a perda do potencial de membrana mitocondrial e estimulou alterações na integridade da membrana plasmática, sugerindo a ativação de processos apoptóticos. Também foi relatada a inibição da produção do fator de necrose tumoral (TNF-α) e da interleucina IL-6, apontando para efeitos imunomodulatórios relevantes. Tais evidências apontadas como referencial reforçam a perspectiva de que essas naftoquinonas são candidatas potenciais para o desenvolvimento de novos fármacos com atividade antileishmania, baseados em produtos naturais ou em suas derivações sintéticas. Também foi relatado, em estudo de Araújo *et al*., (2019), a atividade antileishmania do lapachol *in vitro* contra *L. infantum* e *L. amazonensis* em células HepG2, os altos valores de CC_{50} e baixo CI_{50} contra *L. amazonensis* (CI_{50} = 79,84 ± 9,10 μM, IS = 42,65) e *L. infantum* (CI_{50} = 135,79 ± 33,04 μM, IS = 25,08) resultaram em valores de IS > 20, sugerindo que o lapachol foi eficaz contra as formas amastigotas intracelulares e seletivo para as cepas de *L. amazonensis* e *L. infantum*.

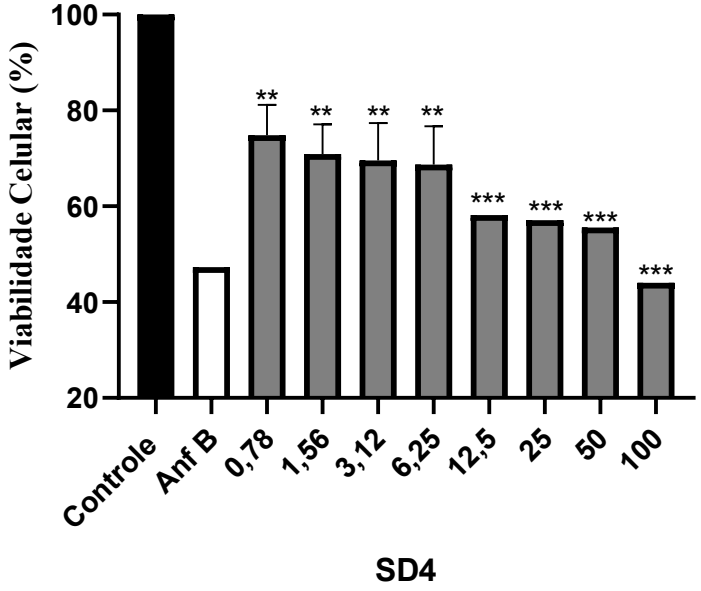
As concentrações crescentes testadas do composto SD4 sugerem ser capazes de inibir significativamente o crescimento de formas promastigotas de *L. amazonensis* (Figura 11). Observa-se uma resposta dose-dependente, com aumento progressivo da inibição conforme o incremento das concentrações, atingindo níveis de inibição superiores a 90% nas maiores concentrações avaliadas. A investigação de substâncias isoladas ou em combinação tem sido evidenciado como uma abordagem estratégica no desenvolvimento de novas terapias para leishmaniose. O reposicionamento de fármacos e a combinação de compostos bioativos demonstram potencializar a eficácia antiparasitária, além de possibilitar a redução das doses necessárias de cada agente, contribuindo para minimizar a toxicidade e os efeitos adversos associados ao tratamento (Torres-Santos et al., 2022).

Diante dos achados, os resultados do presente estudo indicam a relevância das naftoquinonas como moléculas possíveis na busca por novos agentes terapêuticos para a leishmaniose, evidenciando seu potencial antileishmania associado a baixos níveis de citotoxicidade em células hospedeiras. Além das moléculas naturais, a síntese de derivados de naftoquinonas tem se mostrado uma estratégia eficaz para a modulação de propriedades farmacológicas, permitindo a otimização da seletividade. Dessa forma, a investigação de naftoquinonas naturais e de seus derivados sintéticos apresentam-se como uma abordagem estratégica para o desenvolvimento de terapias inovadoras, mais eficazes e com um perfil de segurança otimizada para o tratamento da leishmaniose.

5.2 Determinação da citotoxicidade do composto SD4 em macrófagos murinos e índice de seletividade

Considerando os resultados favoráveis obtidos para a atividade antileishmanial efetuou-se a avaliação da citotoxicidade do composto SD4 com o objetivo de determinar seu potencial de seletividade e segurança para aplicações terapêuticas. Os resultados apresentados (Figura 12) indicam que o composto SD4 mantém a viabilidade dos macrófagos murinos em níveis elevados nas concentrações mais baixas, com 85% e 83% de viabilidade nas concentrações 0,78 µg/mL e 1,56 µg/mL, respectivamente, sem evidenciar redução significativa em comparação ao controle negativo. Na concentração de 3,12 µg/mL, a viabilidade celular permaneceu alta, em torno de 80%, apresentando leve redução. A partir de 6,25 µg/mL, observa-se uma redução mais pronunciada, com a viabilidade caindo para aproximadamente 70%. Em concentrações superiores a 12,5 µg/mL, o composto SD4 demonstra efeito citotóxico na viabilidade celular abaixo de 50%, sugerindo toxicidade significativa nessas doses.

Figura 12 – Análise do Efeito Citotóxico da Molécula Sintetizada SD4 em Macrófagos Murinos da molécula sintetizada SD4 após 48 h de exposição.



Fonte: O autor (2025).

Estudos realizados por Santos et al. (2023) com derivados de lapachol e β-lapachona, estruturas químicas de referência para a síntese de SD4, sugerem potencial citotóxico

variável, dependendo das substituições químicas introduzidas. Silva *et al*. (2023) observou que derivados semissintéticos da β-lapachona, estrutura base do SD4, exibem atividade citotóxica variável, dependente das substituições químicas, com maior toxicidade em concentrações acima de 10 μg/mL em células tumorais. Paralelamente, Oliveira e Santos (2024) relataram que compostos naftoquinônicos modificados apresentaram efeito antiproliferativo significativo em linhas celulares cancerígenas, com efeito menor em células normais, ressaltando a importância da seletividade.

Em estudos de Costa et al., (2017) frações e substâncias isoladas de *Handroanthus serratifolius* contra *L. amazonensis* foram utilizados para avaliar o seu efeito antileishmania, no estudo, o lapachol foi obtido por extração ácido-base seguida de purificação em coluna cromatográfica, e para os testes de atividade antipromastigota e citotoxicidade foram realizados o MTT. Células Tumor Humano Promonocítico (THP-1) modificadas foram infectadas com promastigotas de *L. amazonensis* e tratadas por 24 horas com diferentes concentrações do extrato, frações e lapachol. O lapachol foi seletivamente ativo apenas contra amastigotas (CC_{50} > 500,0 μg/mL).

Para melhor contextualização do efeito citotóxico do composto SD4, a Anf B foi utilizada como controle positivo. Trata-se de um fármaco amplamente utilizado no tratamento da leishmaniose, sendo considerado uma das principais opções terapêuticas da doença. Apesar de sua elevada eficácia antileishmania, seu uso clínico é limitado devido à significativa citotoxicidade associada esses efeitos adversos, especialmente a nefrotoxicidade, representando um desafio importante na terapia, justificando a necessidade de investigação de novos compostos com atividade seletiva e menor toxicidade (Gomes et al., 2022).

No presente estudo, o composto SD4 apresentou redução significativa da viabilidade celular, em torno de 25%. Quando comparado à Anfotericina B (0,2 μg/mL), observou-se que as concentrações mais elevadas de SD4 (50,0 e 100,0 μg/mL) apresentaram efeitos semelhantes, com a viabilidade celular reduzida a aproximadamente 20%. Esse comportamento sugere que, em doses mais altas, o SD4 exerce um efeito citotóxico acentuado, evidenciado pela redução expressiva do número de células viáveis. Essa comparação destaca que, embora o SD4 apresente citotoxicidade em concentrações elevadas, seu comportamento em doses mais baixas indica um perfil mais seguro.

Os resultados obtidos com o composto SD4 mostram-se promissores, com um IS elevado de 28.68, indicando boa seletividade da substância contra o organismo-alvo. Esse valor indica favorável potencial terapêutico com baixo risco de toxicidade as células hospedeiras, sendo um indicativo de que a substância tem potencial para atuar como agente

antileishmania com baixo risco de toxicidade celular. Isso é especialmente importante para o desenvolvimento de terapias mais seguras, visto que muitos tratamentos atuais para leishmaniose apresentam efeitos adversos significativos devido à baixa seletividade (Santos *et al*., 2020; Ramos-Milaré *et al*., 2023).

Estudos anteriores, como os de Handi *et al.*, (2018) e Shokri *et al*., (2017), sugerem que valores de IS superiores a 10 e 20, respectivamente, indicam segurança para as células. No entanto, pesquisas mais recentes propõem critérios diferentes. Por exemplo, Awouafack *et al*., (2021) recomendam um valor de IS ≥ 10 como aceitável para amostras bioativas seletivas. Entretanto, estudos sugerem que valores de IS ≥ 2,0 indicam seletividade, especialmente em contextos de avaliação de compostos contra células tumorais.

5.3 Índice de hemólise do composto SD4 em eritrócitos de carneiro

A hemólise, caracteriza-se por danos celulares e extravasamento de hemoglobina devido a fatores mecânicos, alterações no equilíbrio ácido/base, pressão osmótica ou xenobióticos, caracterizando-se como um fator limitante para o sucesso terapêutico ou desenvolvimento de novas drogas (Sousa et al., 2020). Os eritrócitos são o principal componente na circulação sanguínea. Eles constituem um modelo celular fundamental para estudos de potenciais interações do sangue com agentes químicos e farmacológicos. Alterações morfológicas, ruptura da integridade da membrana eritrocitária, e subsequente hemólise podem ser usadas para determinar a citotoxicidade de vários compostos. Além disso, os eritrócitos podem ser usados como um modelo celular na investigação de estresse oxidativo gerado por certas doenças ou xenobióticos, uma vez que as células vermelhas estão permanentemente sujeitas ao estresse oxidativo (Podsiedlik et al., 2020).

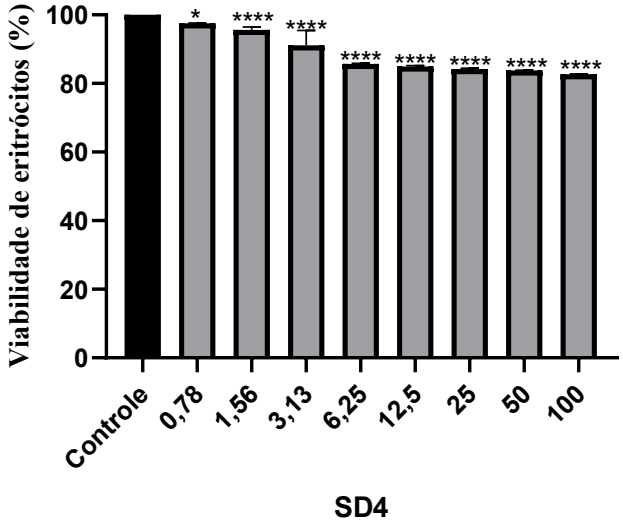
Conforme demonstrado na Figura 13, a exposição dos eritrócitos ao SD4 resultou em uma discreta redução da viabilidade celular em todas as concentrações testadas (0,78–100 μg/mL), mantendo-se acima de 80%. Nas concentrações mais baixas (0,78–3,13 μg/mL), a viabilidade permaneceu próxima a 90%. Em concentrações intermediárias e mais elevadas (6,25–100 μg/mL), observou-se estabilização da viabilidade em torno de 80–85%. O grupo controle manteve valores próximos a 100%, confirmando a ausência de citotoxicidade basal. Esses resultados sugerem que o composto apresenta baixa toxicidade frente aos eritrócitos mesmo em altas concentrações.

Pesquisas envolvendo a β-lapachona têm sugerido que essa naftoquinona, apesar de sua conhecida atividade biológica, não apresenta efeito hemolítico significativo em concentrações testadas. Em pesquisa conduzida por Pereira et al., (2020) a β-lapachona foi

avaliada quanto à sua toxicidade em eritrócitos humanos, não sendo observada liberação significativa de hemoglobina, o que indica ausência de hemólise. Outro estudo demonstrou que, mesmo atuando como agente redox e indutor de espécies reativas de oxigênio, a β-lapachona não compromete a integridade das membranas eritrocitárias.

Outros estudos com o autor Santos et al. (2023) indicam que a β-lapachona pode apresentar diferentes efeitos sobre os eritrócitos, dependendo do contexto experimental. A molécula analisada, derivada da β-lapachona, demonstra indícios que o composto sintético SD4 induz hemólise de forma dose-dependente, especialmente em concentrações baixas e intermediárias. Em concentrações mais elevadas, indica uma possível saturação ou limitação nos mecanismos de interação com as membranas dos eritrócitos. A manutenção da viabilidade celular acima de 80%, mesmo em doses elevadas, sugere que o SD4 apresenta um perfil de toxicidade hemolítica relativamente baixo. No entanto, concentrações superiores a 1,56 µg/mL devem ser analisadas com cautela, a fim de prevenir possíveis danos aos eritrócitos.

Figura 13 – Efeito da molécula sintetizada SD4 na viabilidade de eritrócitos. Laboratório de Atividade Antileishmania.



Fonte: O autor (2025)

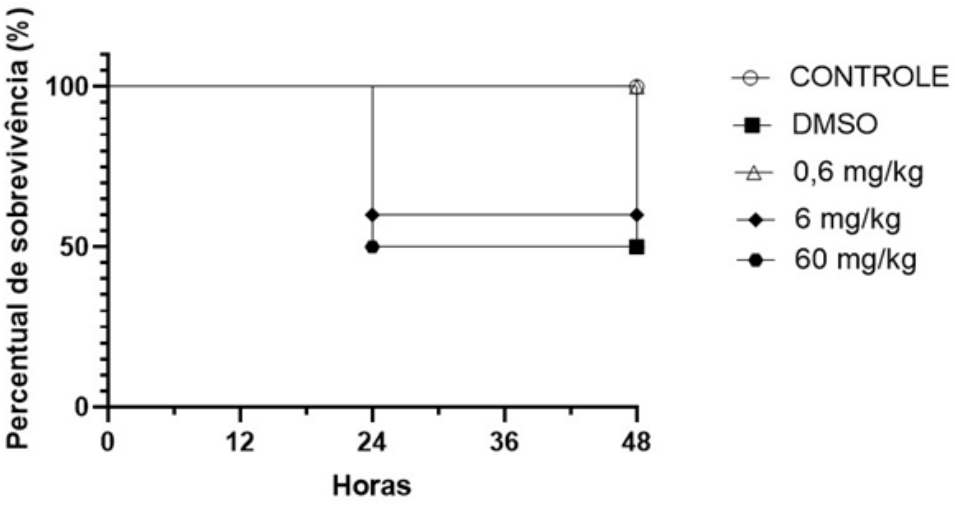
5.4 Toxicidade da molécula sintetizada SD4 em larvas de *Tenebrio molitor*

O *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: *Tenebrionidae*) mais conhecido como verme da farinha é uma praga de grãos nativa da Europa (Domínguez-Arrizabalaga *et al*., 2020). Atualmente, essa espécie é criada em massa para atender às crescentes demandas globais de proteína e à necessidade de reduzir o impacto ambiental das cadeias de produção de

alimentos, ressalta-se ser uma alternativa de fácil crescimento e manutenção com ciclo de vida curto e fácil manuseio (Smetana et al., 2021; Van Huis, 2013; Van Huis et al., 2021). Além disso, Brai et al. (2023) reportaram que o *T. molitor* é uma alternativa favorável para avaliação de toxicidade preliminar de compostos. Isso porque, entre outros estudos os autores demonstram que a dose letal mediana (DL_{50}) de alguns fármacos administrados às larvas de *T. molitor* mostraram uma boa correlação quando comparada às de ratos e camundongos.

A Figura 14 apresenta os resultados da taxa de sobrevivência das larvas de *T. molitor* submetidas a diferentes concentrações do composto sintetizado SD4 (0,6 mg/kg, 6 mg/kg e 60 mg/kg). A análise inclui também dois controles: um com solução salina a 0,9%, utilizado como controle negativo, e outro com DMSO, que serviu como veículo do composto. Observa-se que a concentração mais baixa de SD4, 0,6 mg/kg, manteve a taxa de sobrevivência das larvas em níveis semelhantes aos controles, sugerindo baixa toxicidade nessa dose. Já as concentrações intermediária (6 mg/kg) e alta (60 mg/kg) apresentaram uma redução na sobrevivência, indicando um possível aumento da toxicidade em doses maiores. Esses resultados evidenciam a importância de estudos adicionais para elucidar a relação dose-resposta e os mecanismos envolvidos na toxicidade do SD4 em modelos invertebrados.

Figura 14 – Sobrevivência das larvas de *Tenebrio molitor* após 24, 48 e 72 horas de exposição à molécula sintetizada SD4.



Fonte: O autor (2025)

Os achados reforçam o potencial do SD4 em concentrações reduzidas, especialmente como base para futuras investigações de sua atividade antileishmania. Quando submetidas à concentração de 6 mg/kg observou-se em média 70% de sobrevivência após 48 horas o que indica que nessa concentração intermediaria do composto ocorreu toxicidade moderada. Entretanto, a concentração de 60 mg/kg apresentou efeitos semelhantes aos observados com o tratamento contendo DMSO, indicando um possível efeito tóxico do composto SD4 sobre as larvas de *T. molitor*.

Contudo, pode-se levar em consideração fatores como a vulnerabilidade, estresse, técnica para administração de substância e a eventual necessidade de replicação de teste com diferentes concentrações para garantia de resultados mais específicos. Nesse contexto, a utilização dessas larvas sugere ser promissora como modelo alternativo, devido ao seu baixo custo, fácil manejo e rápido ciclo de vida, contribuindo para a padronização de protocolos de avaliação toxicológica de novos compostos bioativos.

Além dos dados obtidos neste estudo, a literatura tem evidenciado o uso de *T. molitor* como um modelo alternativo promissor para testes toxicológicos. Bogaerts et al. (2022) destacam a versatilidade das larvas de *T. molitor* em avaliações de toxicidade ambiental, demonstrando sua sensibilidade a diferentes agentes químicos, incluindo pesticidas e metais pesados. Estudos de Alves *et al.,* (2023) demonstraram a aplicabilidade de larvas de *T. molitor* como modelo alternativo eficaz na triagem de fármacos com potencial antileishmania. O estudo validou esse invertebrado como um modelo relevante devido à correlação positiva entre os dados obtidos nas larvas e os modelos vertebrados, além de vantagens como o baixo custo e a facilidade de manejo. Esses achados corroboram os dados obtidos no presente estudo, sugerindo que a menor concentração do composto SD4 apresenta baixa toxicidade e pode ser explorada em investigações futuras sobre sua atividade antiparasitária.

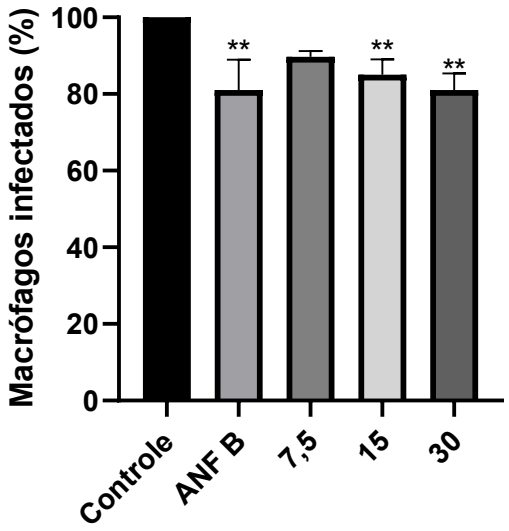
Sendo assim, reforça-se o valor do modelo invertebrado *T. molitor* como ferramenta eficiente e ética para estudos toxicológicos preliminares de novos compostos bioativos, como o SD4. A resposta biológica observada nas larvas, especialmente a baixa toxicidade na concentração de 0,6 mg/kg, indica um perfil de segurança promissor para investigações futuras. Dessa forma, a continuidade dos estudos com o SD4, ampliando o espectro de doses e incorporando avaliações complementares de toxicidade e eficácia, se mostra essencial para o avanço na busca por novas terapias, especialmente no contexto de doenças negligenciadas como a leishmaniose.

5.5 Avaliação da infecção e infectividade de macrófagos com *Leishmania amazonensis e Leishmania infantum* e tratados com SD4

Como controle positivo, utilizou-se a Anf B (0,2 µg/mL), fármaco de referência no tratamento da leishmaniose. A porcentagem de macrófagos infectados foi determinada após o tratamento, e os resultados foram analisados separadamente para *L. infantum* e *L. amazonensis*. No caso da infecção por *L. infantum*, os dados sugerem que o composto SD4 promoveu uma redução significativa na taxa de infecção dos macrófagos em todas as concentrações testadas, quando comparado ao grupo controle (sem tratamento). A Anf B também apresentou eficácia na redução da infecção. Esses resultados sugerem que o SD4 é eficaz em reduzir a infecção por *L. infantum*.

Adicionalmente, a avaliação do SD4 na infecção por *L. amazonensis* (Figura 15) revelou uma redução significativa da carga parasitária nos macrófagos tratados, em todas as concentrações testadas. Os resultados foram dependentes da dose e mostraram que, nas concentrações de 15,0 µg/mL ($p<0,001$) e 30,0 µg/mL ($p<0,0001$), o SD4 apresentou eficácia superior à da Anf B ($p<0,01$). A concentração de 30,0 µg/mL foi a mais eficaz, reduzindo a porcentagem de macrófagos infectados para aproximadamente 50%. Esses achados indicam o potencial do SD4 como agente terapêutico contra diferentes espécies de leishmania.

Figura 15 – Infecção de macrófagos murinos sob diferentes condições de tratamento com composto SD4 em cepas de *L. infantum*.

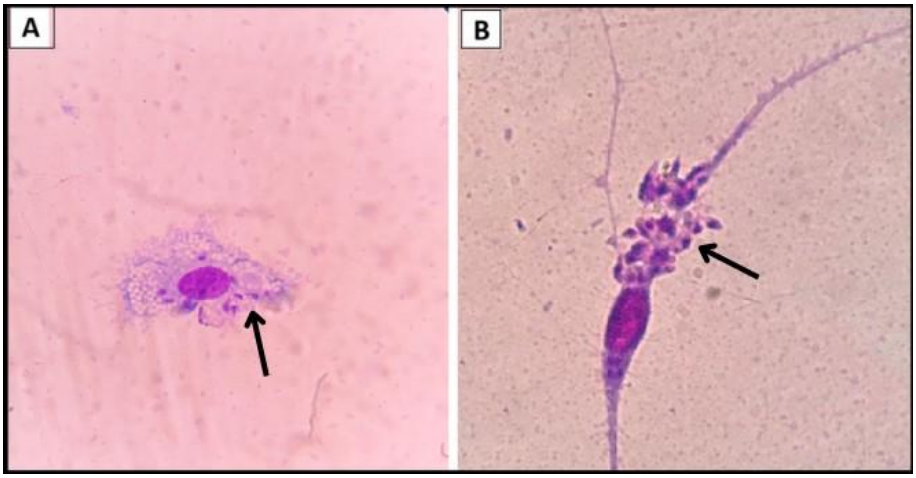


Fonte: O autor (2025)

A resposta imunológica do hospedeiro, especialmente a atuação dos macrófagos células-chave na defesa contra o parasita, desempenha papel fundamental na evolução da infecção (Gomes et al., 2019). Segundo Bogdan (2020), o microambiente tecidual e o metabolismo celular influenciam diretamente a polarização dessas células durante a infecção, afetando sua capacidade de controlar o parasita. Além disso, Carneiro *et al*. (2020) destacam que a regulação de subsetores de macrófagos e a produção de citocinas são elementos cruciais na resposta imune contra a leishmaniose, sendo, portanto, potenciais alvos para estratégias terapêuticas. Em síntese estudos de Cojean et al. (2020) destacaram o papel da rede de microtúbulos dos macrófagos na sobrevivência intracelular da *L. amazonensis*, mostrando que a desorganização dessa estrutura compromete a formação de vacúolos parasitóforos.

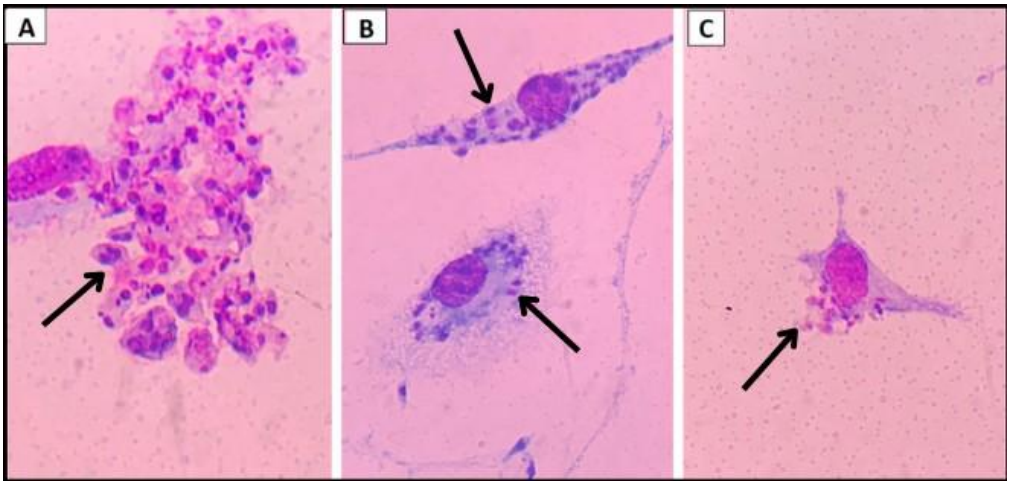
Em conjunto, os dados obtidos neste estudo, aliados às evidências da literatura, levam a hipótese que a SD4 interfere de maneira eficaz em processos celulares críticos para o estabelecimento da infecção por leishmania. Estudos adicionais são necessários para elucidar os mecanismos moleculares específicos envolvidos, bem como para avaliar a citotoxicidade, farmacocinética e eficácia *in vivo* dessa substância.

Figura 16 – Macrófagos experimentalmente infectados com *L. infantum*. Anf B foi utilizada como controle positivo (A). O grupo controle está representado na figura (B).



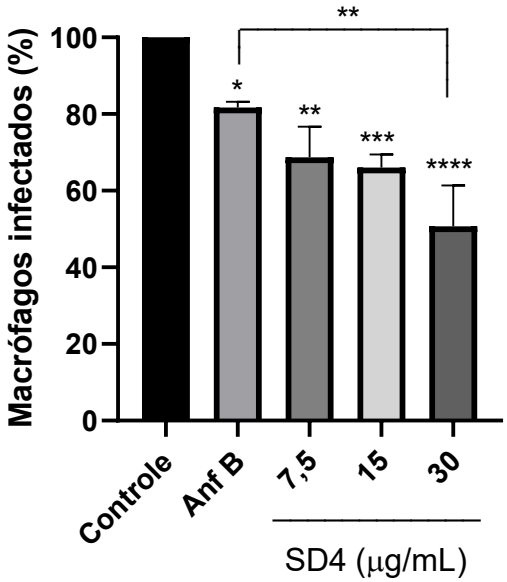
Legenda: A figura A corresponde ao tratamento com Anf B, utilizada como controle positivo na concentração de 0,2 µg/mL. A figura B representa o grupo controle. As setas indicam as formas amastigotas internalizadas. Coloração por Panótico rápido. Aumento de 1000x. Fonte: Autoria própria, 2025.

Figura 17 – Macrófagos murinos infectados com *L. infantum* e posteriormente tratados com o composto SD4. Foram utilizadas as concentrações referentes a ½ x CI_{50}, 1 x CI_{50}, e 2 x CI_{50}, respectivamente.



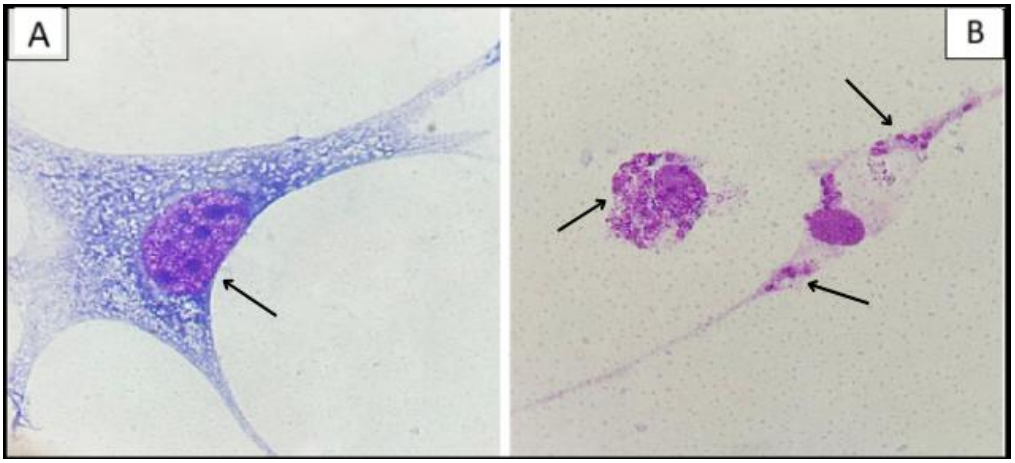
Legenda: Os algarismos após as letras têm o seguinte significado: (1) corresponde ao tratamento com ½ x CI_{50}; (2) ao tratamento com 1 x CI_{50} e (3) ao tratamento com 2 x CI_{50}. As setas indicam as formas amastigotas internalizadas. Coloração por Panótico rápido. Aumento 1000x. Fonte: Autoria própria, 2025.

Figura 18 – Efeito do composto SD4 na infecção de macrófagos por *Leishmania amazonensis*



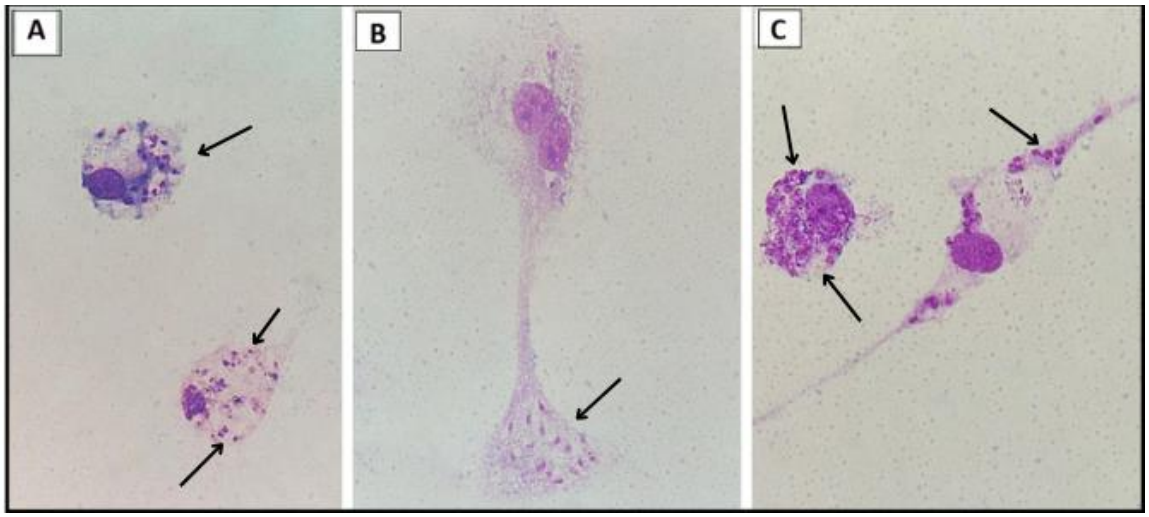
Fonte: O autor (2025)

Figura 19 – Macrófagos experimentalmente infectados com *L. amazonensis*. Anfotericina B foi utilizada como controle positivo (A). O grupo controle está representado na figura (B).



Legenda: A figura A corresponde ao tratamento com Anfotericina B, utilizada como controle positivo na concentração de 0,2 µg/mL. A figura B representa o grupo controle. As setas indicam as formas amastigotas internalizadas. Coloração por Panótico rápido. Aumento de 1000x. Fonte: Autoria própria, 2025.

Figura 20 – Macrófagos murinos infectados com *L. amazonensis* e posteriormente tratados com o composto SD4. Foram utilizadas as concentrações referentes a ½ x CI_{50}, 1 x CI_{50}, e 2 x CI_{50}, respectivamente.



Legenda: Os algarismos após as letras têm o seguinte significado: (1) corresponde ao tratamento com ½ x CI_{50}; (2) ao tratamento com 1 x CI_{50} e (3) ao tratamento com 2 x CI_{50}. As setas indicam as formas amastigotas internalizadas. Coloração por Panótico rápido. Aumento 1000x. Fonte: Autoria própria, 2025.

5.6 Índice de sobrevivência na infecção de macrófagos com composto SD4 em cepas de leishmania.

Ao analisar a quantidade de amastigotas internalizadas, conforme (Figura 21) o tratamento com SD4 resultou em redução do índice de sobrevivência em comparação ao grupo controle, que apresentou o maior valor observado. A Anf B, utilizada como controle positivo, indicou a diminuição mais acentuada do índice, com valor próximo a 8, confirmando sua reconhecida atividade antileishmania. As concentrações de SD4 testadas (7,5; 15,0 e 30,0 μg/mL) apresentaram efeitos semelhantes entre si com discreta tendência de redução na maior concentração. Embora o efeito do SD4 tenha sido menos pronunciado que o da Anf B, os resultados demonstram potencial atividade antileishmania do composto.

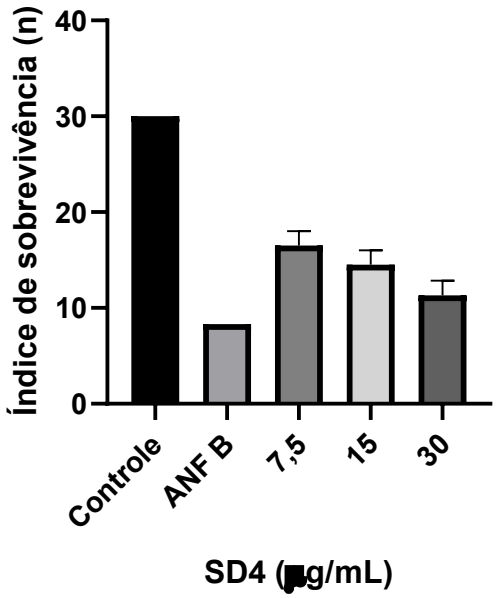
Os ensaios de triagem, que envolvem formas amastigotas internalizadas, são fundamentais para avaliar a eficácia de potenciais fármacos contra *Leishmania* sp. O ensaio *in vitro* com amastigotas no interior de macrófagos destaca-se como o mais relevante, pois simula de maneira mais fidedigna o parasitismo celular característico em hospedeiros vertebrados (Haldar; Sen; Roy, 2011). Estudos recentes corroboram essa importância: De Souza Aguiar et al., (2023) demonstraram que uma lectina derivada de Microgramma vacciniifolia apresenta atividade antileishmanial e efeitos imunomoduladores significativos contra amastigotas de L. amazonensis internalizadas, reforçando o valor desse modelo para capturar respostas farmacológicas e imunológicas.

Girardi et al. (2025) evidenciaram que compostos ativos contra formas promastigotas e amastigotas axênicas frequentemente apresentam eficácia reduzida quando avaliados em amastigotas intracelulares. Essas evidências reforçam que a avaliação sobre formas amastigotas intracelulares constitui uma etapa crítica no processo de desenvolvimento de novas terapias, pois permite identificar candidatos promissores com maior potencial de translação para modelos *in vivo* e, futuramente, para aplicações clínicas. Dessa forma, os resultados obtidos para o SD4, embora inferiores ao padrão Anf B, sugerem que o composto necessita de investigações adicionais, especialmente em modelos experimentais mais complexos, para confirmar sua eficácia e segurança.

Bezerra et al., (2021), demonstraram que extratos e frações obtidos de *Platonia insignis* reduziram significativamente o número de amastigotas internalizadas em macrófagos, além de induzirem aumento da produção de óxido nítrico e de espécies reativas de oxigênio, indicando efeito imunomodulador associado à atividade antiparasitária, mantendo baixa

citotoxicidade às células hospedeiras. Mais recentemente, Aguiar et al., (2023), investigaram uma lectina isolada de *Microgramma vacciniifolia*, que apresentou atividade antileishmania contra *L. amazonensis* em macrófagos infectados, reduzindo significativamente a carga parasitária intracelular e, ao mesmo tempo, promovendo ativação imunológica dos fagócitos, evidenciando um efeito combinado antiparasitário e imunomodulador. Em conjunto, esses resultados reforçam a relevância do modelo de macrófagos infectados como ferramenta essencial para a identificação de novos compostos promissores contra a leishmaniose.

Figura 21 – Índice de sobrevivência de macrófagos infectados sob diferentes concentrações.



Fonte: O autor (2025)

5.7 Avaliação da indução de síntese de óxido nítrico por macrófagos tratados com SD4

A produção de óxido nítrico (NO) pelos macrófagos é um componente essencial da resposta imune inata, desempenhando um papel crucial na defesa contra patógenos. Essa produção é mediada principalmente pela enzima óxido nítrico sintase induzível (iNOS), cuja expressão é induzida por estímulos como o lipopolissacarídeo (LPS) bacteriano e citocinas pró-inflamatórias. O NO atua como agente citotóxico e citostático, inibindo processos vitais em microrganismos invasores, como a fosforilação oxidativa e a replicação do DNA (Fujii; Osaki, 2023)

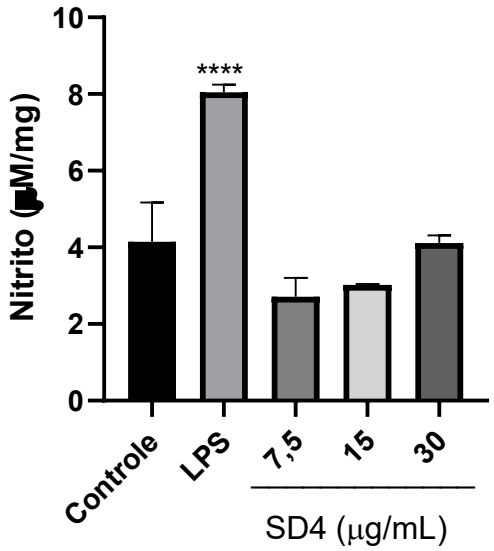
No entanto, a produção excessiva de NO pode levar a danos teciduais e contribuir para a patogênese de diversas doenças inflamatórias. Assim, ao avaliar novos compostos com

potencial terapêutico, é fundamental determinar se eles induzem a ativação de macrófagos e a subsequente produção de NO. A análise dos níveis de nitrito demonstrou que a substância SD4, nas concentrações testadas (7,5; 15,0 e 30,0 µg/mL), não induziu um aumento significativo na produção desse metabólito em macrófagos não infectados, em comparação ao grupo controle. Por outro lado, o estímulo positivo com LPS resultou em uma elevação marcante dos níveis de nitrito, validando o modelo experimental e confirmando a responsividade das células ao estímulo pró-inflamatório (Figura 22).

Nesse contexto, a ausência de indução de nitrito por SD4 sugere que o composto não ativa a via inflamatória mediada por iNOS em macrófagos em repouso. Este achado é especialmente relevante para o desenvolvimento de agentes terapêuticos, pois compostos com potencial farmacológico idealmente não devem provocar ativação imunológica em células saudáveis, a fim de evitar efeitos adversos relacionados à inflamação sistêmica ou danos colaterais a tecidos não afetados (Ghasemi et al., 2021).

Além disso, o perfil observado para SD4 sugere um possível efeito imunomodulador ou mesmo anti-inflamatório, hipótese que pode ser explorada em estudos futuros envolvendo desafios inflamatórios mais complexos, como coestimulação com LPS ou infecção por patógenos intracelulares. A ausência de efeito pró-inflamatório também corrobora dados prévios de compostos naturais com estruturas semelhantes, que frequentemente apresentam propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias (Alam et al., 2021).

Figura 22 – Avaliação do potencial pró-inflamatório de SD4 em macrófagos não infectados



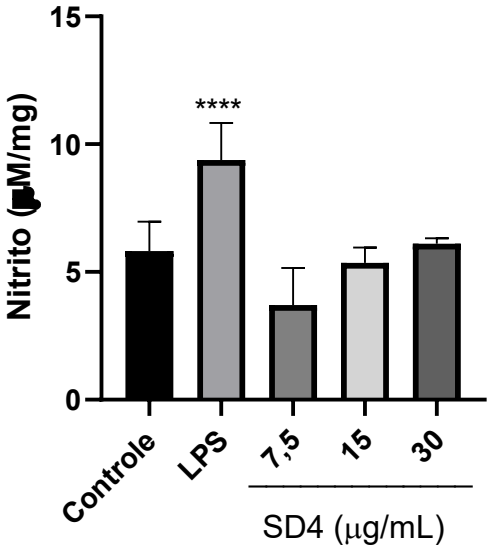
Fonte: O autor (2025).

A LV, causada por *L. infantum*, é uma doença parasitária grave que depende da ativação efetiva da resposta imune inata, particularmente dos macrófagos, para controle e eliminação do patógeno. A produção (NO), medida indiretamente por meio da concentração de nitrito, representa um dos principais mecanismos antileishmania dessas células, como demonstrado por Ribeiro *et al*. (2020) que relataram aumento da capacidade fagocítica e da produção intracelular de NO por monócitos humanos pró-inflamatórios infectados com *L. infantum*.

Nosso estudo busca analisar se a molécula SD4 é capaz de influenciar a ativação dos macrófagos e a produção de óxido nítrico, sugerindo um potencial efeito imunomodulador que poderia ser explorado terapeuticamente no controle da leishmaniose visceral. Neste estudo, observamos que o tratamento com LPS resultou em um aumento estatisticamente significativo na produção de nitrito ($p < 0,0001$) (Figura 23), confirmando sua função como potente ativador de macrófagos. Os grupos tratados com SD4 (7,5; 15,0 e 30,0 μg/mL) apresentaram níveis de nitrito semelhantes ou inferiores aos do controle (Figura 23). Inicialmente, esse perfil pode sugerir um possível efeito imunomodulador ou anti-inflamatório. Esses dados indicam que a SD4 não induz a ativação da via do NO em macrófagos infectados com *Leishmania*, podendo inclusive exercer um efeito inibitório sobre essa resposta.

Estudos recentes têm evidenciado que a resposta dos macrófagos à infecção por *L. infantum* é modulada por diversos mecanismos celulares e moleculares. Diotallevi et al. (2024) demonstram em estudos recentes que a infecção induz a ativação de vias inflamatórias e do fator de transcrição Nrf2, regulador do equilíbrio redox e da inflamação nos macrófagos. Além disso, Palomino-Cano et al. (2024) destacam que o parasita pode redirecionar os macrófagos para um fenótipo M2, favorecendo sua sobrevivência e replicação, principalmente por meio da competição por ferro, essencial para a defesa antioxidante e para a modulação do fenótipo das células hospedeiras.

Figura 23 – Avaliação da síntese de Óxido Nítrico em Macrófagos após Tratamento com o composto SD4 com *L. infantum*.



Fonte: O autor (2025)

A produção de nitrito foi avaliada como um indicativo da ativação da via do óxido nítrico em macrófagos infectados com *L. amazonensis*, na presença ou ausência do tratamento com a substância SD4 em diferentes concentrações (7,5; 15,0 e 30,0 µg/mL). Como controle positivo, utilizou-se o estímulo com lipopolissacarídeo (LPS), um potente indutor da expressão do óxido nítrico sintase induzível (iNOS), enquanto o controle negativo consistiu em células infectadas, mas não tratadas.

Conforme observado na Figura 24, os macrófagos infectados e estimulados com LPS apresentaram um aumento significativo na produção de nitrito (cerca de 8,5 µg/mL), em comparação ao controle negativo (aproximadamente 5 µg/mL), com significância estatística altamente robusta (****$p < 0,0001$). Este resultado confirma a responsividade das células ao estímulo pró-inflamatório e valida o ensaio como modelo de ativação de macrófagos.

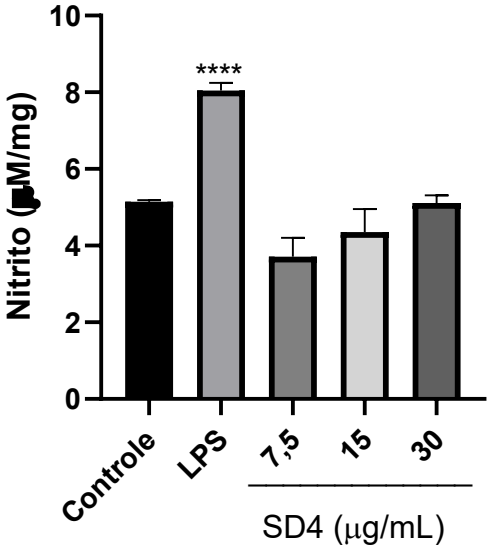
Em contrapartida, o tratamento com SD4, em nenhuma das concentrações testadas, promoveu um aumento significativo nos níveis de nitrito. Observou-se, inclusive, uma leve redução na produção de nitrito com a menor concentração (7,5 µg/mL), enquanto as concentrações de 15,0 e 30,0 µg/mL apresentaram níveis semelhantes ao controle, sem diferenças estatisticamente significativas.

Esses dados sugerem que a substância SD4, nas concentrações utilizadas, não é capaz de induzir a produção de NO em macrófagos infectados com *L. amazonensis*. Tal resultado

pode indicar um perfil de ação anti-inflamatório ou imunomodulador da substância, com possível inibição da via da iNOS, especialmente em concentrações mais baixas. Alternativamente, é possível que SD4 atue em outras vias imunológicas independentes da produção de nitrito, o que deve ser explorado em análises subsequentes.

Estudos recentes conduzidos por Ferreira et al. (2023) demonstraram que a suplementação com poliaminas, como putrescina, pode modular a expressão do gene *Nos2* sem necessariamente aumentar a produção de NO, evidenciando a complexidade da regulação dessa via metabólica. Ademais, a infecção induz a expressão de microRNAs, como miR-294 e miR-721, que regulam negativamente genes envolvidos na produção de NO, favorecendo a sobrevivência do parasita (Rodrigues et al., 2020).

Figura 24 – Comparação entre o estímulo inflamatório de LPS e SD4 na produção de nitrito em *L. amazonensis*



Leishmania amazoensis (+)

Fonte: O autor (2025)

6.0 Investigação da capacidade fagocítica e o volume lisossomal de macrófagos tratados com SD4

A figura 25 demonstra a influência do composto SD4 sobre a atividade fagocítica de células expostas ao Zymozan. Observa-se que a menor concentração testada (6,25 µg/mL) promoveu um aumento significativo na fagocitose quando comparada ao grupo controle, indicando que, em baixas doses, o SD4 pode estimular a resposta fagocítica das células.

A partir da concentração de 12,5 µg/mL, no entanto, nota-se uma redução progressiva da fagocitose, sendo o menor nível registrado na maior concentração avaliada (100 µg/mL). Esse comportamento sugere que o SD4 apresenta um perfil bifásico de ação: em concentrações baixas favorece a fagocitose; e em concentrações mais altas, parece inibir essa função celular. Esse tipo de resposta é compatível com o comportamento de diversas substâncias bioativas, que podem atuar como imunomoduladores em determinadas faixas de dose e, em concentrações mais elevadas, interferir negativamente na função celular, possivelmente por citotoxicidade, alteração de vias de sinalização ou redução na viabilidade celular (Zhang et al., 2024).

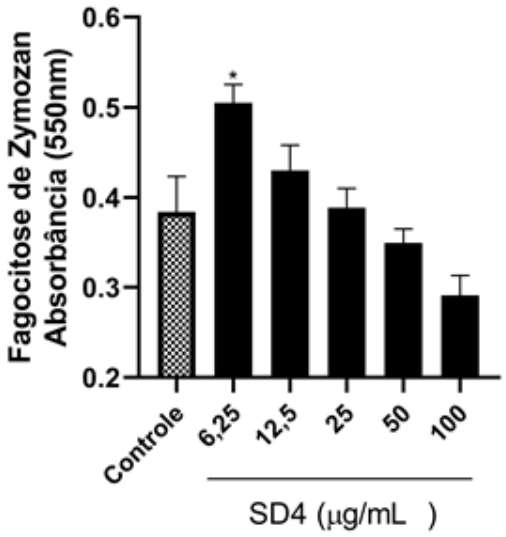
Por outro lado, para comprovação de dados que indiquem uma ação dependente da dose, são necessários experimentos adicionais para confirmar os mecanismos envolvidos, especialmente no que diz respeito à viabilidade das células e à modulação de citocinas pró-inflamatórias. Dessa forma, os resultados obtidos reforçam a necessidade de estudos adicionais para a caracterização completa do perfil farmacológico do SD4, especialmente quanto à sua faixa segura de atuação. A compreensão dessa janela terapêutica é fundamental para o aproveitamento de suas propriedades imunomoduladoras, particularmente em doenças inflamatórias e infecciosas, como as leishmanioses.

Segundo Tang et al., 2024 foram investigados efeitos de mediadores sobre a resposta inflamatória induzida por Zymosan em camundongos. Os resultados mostraram que doses muito baixas reduziram em cerca de 25% a infiltração de neutrófilos no exsudato, enquanto doses mais altas diminuíram em aproximadamente 45% e 65%, respectivamente, evidenciando um efeito dose-dependente na resolução da inflamação. Além disso, Moreno-Gonzalez *et al*., 2023 analisou a ativação do inflamasoma por Zymosan em macrófagos, e os resultados encontrados, indicaram que a ativação do TLR2/MyD88 e do receptor Dectin-1 é crucial para a liberação de IL-1β ativa, um importante marcador inflamatório. Interessantemente, a ativação do inflamasoma não requer necessariamente a fagocitose do Zymosan, sugerindo que a interação inicial com os receptores pode ser suficiente para desencadear a resposta inflamatória.

Esses achados reforçam a importância da concentração do composto SD4 na modulação da fagocitose e da resposta inflamatória. Em baixas concentrações, o SD4 pode atuar como um modulador imunológico, estimulando a fagocitose e promovendo a resolução da inflamação. Por outro lado, concentrações mais altas podem induzir uma resposta inflamatória exacerbada, possivelmente por ativação excessiva de receptores como TLR2 e Dectin-1, mesmo sem fagocitose efetiva.

Portanto, levando-se em consideração os dados obtidos, torna-se essencial determinar a faixa terapêutica segura do SD4 para maximizar seus efeitos benéficos, enquanto se minimizam os riscos de inflamação ou toxicidade celular. Além disso, estudos adicionais são necessários para elucidar completamente os mecanismos moleculares envolvidos e para estabelecer diretrizes clínicas sobre o uso do SD4 em terapias imunomoduladoras.

Figura 25 – Capacidade fagocítica de macrófagos não infectados em resposta ao tratamento com SD4



Fonte: O autor (2025)

Os lisossomos desempenham papel essencial na degradação de macromoléculas e no controle da homeostase celular. Sua inibição ou dano estrutural pode desencadear processos como apoptose ou autofagia disfuncional. A disfunção lisossomal também está associada à patogênese de doenças neurodegenerativas, como a doença de Parkinson, onde a integridade lisossomal comprometida contribui para a morte neuronal (Wani et al., 2024). Assim, os dados obtidos sugerem que o SD4, em concentrações mais elevadas, interfere na atividade lisossomal de forma significativa, podendo contribuir para o comprometimento da viabilidade celular e da manutenção da homeostase.

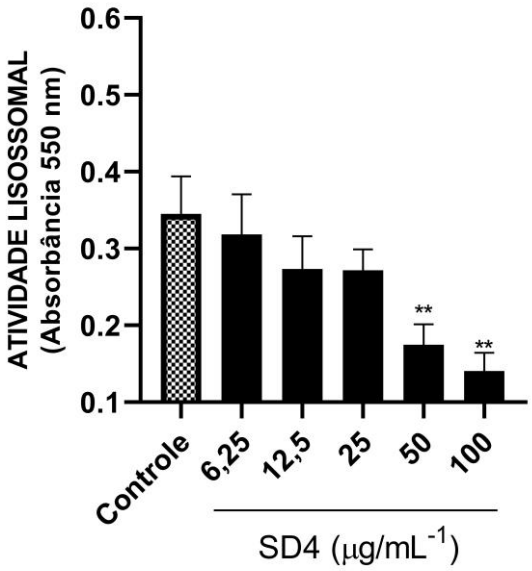
Para os resultados da atividade lisossomal as concentrações de 6,25, 12,5 e 25,0 µg/mL de SD4 (Figura 26), obtiveram uma leve diminuição na atividade lisossomal, porém sem diferença estatisticamente significativa em relação ao controle. O grupo controle

apresentou a maior média de absorbância (~0,33), refletindo maior atividade lisossomal em comparação aos grupos tratados. Os resultados indicaram que o tratamento com SD4 promoveu uma redução progressiva da atividade lisossomal de forma dependente da concentração. Sugere-se com esses achados que o SD4 exerce efeitos citotóxicos sobre os macrófagos em concentrações mais elevadas, o que pode estar associado à disfunção celular induzida por esse composto.

A redução da atividade lisossomal observada nos tratamentos com SD4, especialmente nas concentrações de 50,0 e 100,0 µg/mL (Figura 26), indicam que o composto compromete significativamente a integridade e funcionalidade dos lisossomos. Essa disfunção pode estar relacionada à indução de estresse oxidativo, acúmulo de resíduos celulares ou bloqueio do fluxo autofágico, mecanismos comumente associados à citotoxicidade de diversos agentes químicos.

Estudos recentes demonstram que a exposição a nanopartículas pode induzir disfunção lisossomal, levando à permeabilização da membrana lisossomal (LMP) e à liberação de enzimas hidrolíticas no citosol, eventos que precedem a morte celular programada (Zhou et al., 2024).

Figura 26 – Avaliação da atividade lisossomal no composto SD4 em macrófagos



Fonte: O autor (2025)

7.0 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos neste estudo, observou-se que o composto quinônico SD4 possui potencial promissor como agente antileishmania, aliado a um perfil de segurança favorável. Os ensaios *in vitro* demonstraram que o SD4 foi capaz de inibir de forma significativa o crescimento de formas promastigotas e amastigotas de *Leishmania amazonensis* e *Leishmania infantum*. Os testes de citotoxicidade revelaram que o composto apresenta baixa toxicidade para macrófagos murinos, enquanto o ensaio de hemólise evidenciou ausência de efeito hemolítico relevante apresentando índices de seletividade que indicam boa margem terapêutica.

Os testes de citotoxicidade indicaram baixa toxicidade do composto para macrófagos murinos, enquanto o ensaio de hemólise evidenciou ausência de efeito hemolítico relevante, com índices de seletividade que sugerem boa margem terapêutica. Os resultados obtidos reforçam o perfil de segurança do composto SD4, evidenciado pela ausência de mortalidade significativa em modelo alternativo *in vivo* com larvas de *Tenebrio molitor* nas concentrações testadas.

A análise da infecção de macrófagos revelou que o tratamento com SD4 reduziu tanto a taxa de infecção quanto a carga parasitária, sugerindo efeito direto sobre o parasita e possível modulação da resposta imune. Ensaios adicionais indicaram aumento na produção de óxido nítrico, na capacidade fagocítica e no volume lisossomal dos macrófagos, evidenciando um provável papel imunomodulador do composto.

Esses achados incentivam novas pesquisas para o desenvolvimento de tratamentos inovadores, apontando para o SD4 como um excelente candidato para investigações mais aprofundadas, especialmente no estudo dos seus mecanismos de ação *in vivo*. A continuidade dos estudos será fundamental para consolidar o composto como uma alternativa terapêutica viável e eficaz no combate à leishmaniose, com o objetivo de oferecer novas opções para o tratamento dessa doença parasitária.

REFERÊNCIAS

AGUIAR, J. de S. *et al*. *Lectin from Microgramma vacciniifolia (Langsd. & Fisch.) Copel. has antileishmanial and immunomodulatory effects against Leishmania amazonensis in infected macrophages*. **Acta Parasitologica**, v. 68, p. 667–678, 2023. DOI: https://doi.org/10.1007/s11686-023-00660-3.

AHMAD, Fayyaz *et al*. Naphthoquinones from *Handroanthus impetiginosus* promote skin wound healing through Sirt3 regulation. **Iranian Journal of Basic Medical Sciences**, v. 23, n. 9, p. 1139, 2020.

ALAM, W., *et al.* (2021). *Role of natural products in modulation of pro-inflammatory cytokines in cancer: Updates from pre-clinical and clinical studies*. **Frontiers in Oncology**, 11, 642356.

ALMAGIR *et al.* Medicinal, Non-medicinal, Biopesticides, Color- and Dye-Yielding Plants; Secondary Metabolites and Drug Principles; Significance of Medicinal Plants; Use of Medicinal Plants in the Systems of Traditional and Complementary and Alternative Medicines (CAMs). **Therapeutic Use of Medicinal Plants and Their Extracts**, v. 1, p. 61–104, 2017.

ALMEIDA, F. R. *et al.* Atividade antileishmania de extratos naturais de *Handroanthus impetiginosus*: uma revisão atualizada. *Revista Brasileira de Fitoterapia*, v. 25, n. 3, p. 215-228, 2023.

ALVES, Michel Mualem de Moraes**.** Avaliação do potencial antileishmanicida dos ácidos gálico e elágico contra *Leishmania amazonensis* in vitro. ***Revista Brasileira de Biociências***, Teresina, v. 19, n. 1, p. 33-40, jan./jun. 2021. Disponível em: https://revistas.ufpi.br/index.php/jibi/article/view/11. Acesso em: 14 jun. 2025.

ANDERSEN, M. L.; WINTER, L. M. F. Animal models in biological and biomedical research - experimental and ethical concerns. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 91, n. suppl 1, p. e20170238, 2019.

ATANASOV, A. G.; WALTENBERGER, B.; PFRERSCHY-WENZIG, E. M.; et al. Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: a review. ***Biotechnology Advances***, v. 39, p. 107462, 2021. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2019.107462.

ARAÚJO, I. A. C. *et al.* Efficacy of lapachol on treatment of cutaneous and visceral leishmaniasis. **Experimental Parasitology**, v. 199, n. 1, p. 67–73, 2019.

AWOUAFACK, Maurice Ducret; TANE, Patrice; KUETE, Victor; ELOFF, J. N. (2011). Atividades antimicrobianas e antioxidantes de extratos e dez compostos de três plantas medicinais camerunesas: *Dissotis perkinsiae* (Melastomaceae), *Adenocarpus mannii* (Fabaceae) e *Eriosema robustum* (Fabaceae). ***Journal of Natural Products***, v. 74, n. 2, p. 272-278, 2011. Disponível em: https://doi.org/10.1021/np1008058. Acesso em: 14 ago. 2025.

BAPELA, M. J.; KAISER, M.; MEYER, J. J. M. Antileishmanial activity of selected South African plant species. **South African Journal of Botany**, v. 108, p. 342–345, 2017.

BARROS, R. T. de *et al.* Tratamento da leishmaniose tegumentar no Brasil: terapias convencionais e alternativas. **Revista Fisioterapia & Terapias**, 2024. Disponível em: https://revistaft.com.br/tratamento-da-leishmaniose-tegumentar-no-brasil.

BATISTA, Natália Nunes; MARTINS, Rosana Cilene; ZUFFO, Gustavo Tadeu; ALMEIDA, Washington Luiz Gonçalves de. Isolamento do lapachol a partir de resíduos de madeira de *Tabebuia* spp.: proposta de método alternativo, eficiente e sustentável. ***Química Nova***, v. 41, n. 6, p. 648-652, 2018. DOI: https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170270.

BENNIS, I. *et al*. Burden of scars due to cutaneous leishmaniasis. **International Health**, v. 9, n. 3, p. 162–168, 2017.

BETT, Larissa Amanda *et al*. Forest biotechnology: economic aspects and conservation implications. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 9, n. 1, p. 107-117, 2021.

BEZERRA, E. A. Garcinielliptone FC: Selective anti-amastigote and immunomodulatory effects on macrophages infected by *Leishmania amazonensis*. **Toxicology in Vitro**, v. 63, ed104750, 2020.

BEZERRA, E. A. *et al. Biflavones from Platonia insignis Mart. inhibit Leishmania amazonensis and activate infected macrophages*. Pathogens, v. 10, n. 9, p. 1174, 2021. DOI: https://doi.org/10.3390/pathogens10091174.

BENITEZ, A. N. et al. *Spatial and simultaneous seroepidemiology of anti-Leishmania spp. antibodies in dogs in an endemic area of Brazil*. 2020.

BOECKEN, G.; SUNDERKÖTTER, C.; BOGDAN, C. et al. Diagnóstico e terapia da leishmaniose cutânea e mucocutânea na Alemanha. **Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft**, v. 9, supl. 8, p. 1-51, 2011.

BOGDAN, C. Macrophages as hosts, targets, and effectors of *Leishmania* parasites. **Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases**, [S.l.], v. 12, e2020002, 2020. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6950095/.

BRAI, A. *et al*. Tenebrio molitor as a Simple and Cheap Preclinical Pharmacokinetic and Toxicity Model. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 3, p. 2296, 2023.
BRASIL. Ministério da Saúde. *Plantas medicinais e fitoterápicos no SUS*. Disponível em: https://www.gov.br/saude/pt-br/composicao/sectics/pnpmf/plantas-medicinais-e-fitoterapicos-no-sus. Acesso em: jul. 2024.

BRASIL. Ministério da Saúde. *Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Leishmaniose Visceral*. Brasília, 2020.

BRASIL. *Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral*. Brasília: Ministério da Saúde, 2022. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_controle_leishmaniose_visceral_1edicao.pdf. Acesso em: 15 out. 2025.

BRASIL. *Leishmaniose visceral: diagnóstico e controle*. Brasília: Ministério da Saúde, 2023. Disponível em: https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/l/leishmaniose-visceral. Acesso em: 15 out. 2025.
BRIONES NIEVA, C. A. *et al.* An appraisal of the scientific current situation and new perspectives in the treatment of cutaneous leishmaniasis. **Acta Tropica**, v. 221, p. May, 2021.

BOGAERTS, C. A., VAN GIJSEGEM, F., & DE GELDER, L. **(2022).** *The mealworm Tenebrio molitor as a versatile model for environmental toxicology studies.* **Environmental Pollution**, 292, 118375. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.118375

BURZA, S.; CROFT, S. L.; BOELAERT, M. *Leishmaniasis*. *Lancet*, v. 392, n. 10151, p. 951–970, 2020.

CARNEIRO, M. W. *et al*. Innate immune response and macrophage polarization in leishmaniasis: new insights and perspectives. **Journal of Immunology Research**, [S.l.], v. 2020, p. 1–12, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1155/2020/4914212.

CARVALHO, SH. *et al*. American tegumentary leishmaniasis in Brazil: a critical review of the current therapeutic approach with systemic meglumine antimoniate and short-term possibilities for an alternative treatment. **Tropical Medicine & International Health**, v. 24, p. 380–391, 2019.

CARVALHO, F. M. et al. Urban adaptation of *Lutzomyia longipalpis* and implications for visceral leishmaniasis transmission in Brazil. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, v. 17, e0011388, 2023.

CATÃO, Hugo Cesar Rodrigues Moreira et al. Qualidade física, fisiológica e sanitária de sementes de milho crioulo produzidas no norte de Minas Gerais. **Ciência Rural**, v. 40, p. 2060-2066, 2010.

CHAKRABORTY, A.; MAITY, A.; GUPTA, G. Quantitative proteomics reveals differential abundance of proteins in *Leishmania donovani* promastigotes during growth and differentiation. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 12, 2022. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9362617/.

COJEAN, S. *et al*. The role of the microtubule network in *Leishmania* survival and differentiation inside macrophages. **Parasites & Vectors**, [S.l.], v. 13, n. 1, p. 1–10, 2020. Disponível em: https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-020-04361-7.

COSTA *et al*. Antileishmanial Activity of *Handroanthus serratifolius* (Vahl) S. Grose (Bignoniaceae). **Evidenced Based Complementary and Alternative Medicine**, 2017.

COSTA, A. R.; FERREIRA, D. M. Macrophage-parasite interactions in *Leishmania* infections: challenges for therapy. **Infectious Diseases Reviews**, v. 33, n. 1, p. 12-22, 2017.

COSTA, L. M. *et al*. *In vitro* antileishmanial and immunomodulatory activities of the synthetic analogue riparin E. **Chemico-Biological Interactions**, v. 336, p. ed109389, 2021.

COSTA, M. L. *et al*. Compostos bioativos e propriedades farmacológicas de espécies da família Bignoniaceae. ***Journal of Medicinal Plants Research***, v. 17, n. 6, p. 100-115, 2023.

COSTA, L. M. *et al*. New perspectives on leishmaniasis: Epidemiology and drug discovery. ***Microorganisms***, v. 11, n. 12, p. 2845, 2023. Disponível em: https://www.mdpi.com/2076-2607/11/12/2845. Acesso em: 3 jun. 2025.

COSTA-DA-SILVA, A. C.; NASCIMENTO, D. O.; FERREIRA, J. R. M. et al. Immune Responses in Leishmaniasis: An Overview. ***Tropical Medicine and Infectious Disease***, v. 7, n. 4, p. 54, 31 mar. 2022. DOI:10.3390/tropicalmed7040054.

COSTA, M. P. *et al*. **Antileishmanial and immunomodulatory activities of epoxy-α-lapachone.** *Acta Tropica*, 2020.

COSTA, W. de J. *et al*. Avaliação do efeito anti-leishmania e citotóxico in vitro de derivados de naftoquinonas. ***Reunião Científica***, v. 15, n. 1, p. 45-58, 2024. Disponível em: https://periodicos.saolucas.edu.br/reuniao/article/view/2602. Acesso em: 4 ago. 2025.

CUNHA, J.; CARRILLO, E.; MORENO, J.; CORDEIRO-DA-SILVA, A. Leishmaniasis - Trends in Epidemiology, Diagnosis and Treatment. 2014.

DAHER, E. F. *et al*. Hyponatremia and risk factors for death in human visceral leishmaniasis: new insights from a cross-sectional study in Brazil. **BMC Infectious Diseases**, v. 17, p. 1-8, 2017.

DE LIMA, L. D. P. *et al*. Aspiração pulmonar: uma revisão integrativa da literatura. **Revista de Enfermagem da UFSM**, v. 7, n. 2, p. 371–382, 2017.

DE OLIVEIRA, M. L. *et al*. Análise epidemiológica da Leishmaniose Visceral no Estado do Tocantins no período de 2007 a 2017. **Rev Epidemiol Controle Infecç**, 2019. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20421639/.

DE SOUZA, A. R., *et al.* (2015). Evaluation of the immune response and toxic effects of chemical compounds against *Leishmania*. **Experimental Parasitology**, 150, 52–60. https://doi.org/10.1016/j.exppara.2015.07.010

DINE, I.; MULUGETA, E.; MELAKU, Y.; BELETE, M. Recent advances in the synthesis of pharmaceutically active 4-quinolone and its analogues: a review. ***RSC Advances***, v. 13, p. 8657–8682, 2023.

DIOTALLEVI, A. *et al.* Transcriptional signatures in human macrophage-like cells infected by *Leishmania infantum*, *Leishmania major* and *Leishmania tropica*. ***PLOS Neglected Tropical Diseases***, v. 18, n. 4, p. e0012085, 2024. Disponível em: https://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0012085. Acesso em: 24 ago. 2025.

DO LAGO, Alexsander Frederick Viana et al. Atividade biológica das naftoquinonas e quinonas da espécie de bignoniaceae *Handroanthus serratifolius*. **Observatório de la Economia Latinoamericana**, v. 22, n. 1, p. 1529-1539, 2024.

DOMÍNGUEZ-ARRIZABALAGA, Mikel et al. Insecticidal activity of Bacillus thuringiensis proteins against coleopteran pests. **Toxins**, v. 12, n. 7, p. 430, 2020.

FARID, Y.; BOWMAN, N. S.; LECAT, P. Biochemistry, Hemoglobin Synthesis. In: **StatPearls [online***]*. StatPearls Publishing, 2023. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK536912/.

FERNANDEZ, A.; COCK, I. E. Tabebuia impetiginosa (Mart. ex DC. Mattos) Bark extracts inhibit the growth gastrointestinal bacterial pathogens and potentiate the activity of some conventional antibiotics. **Pharmacognosy Communications**, v. 10, n. 2, p. 75-82, 2020.

FERNÁNDEZ-GARCÍA, M., MESQUITA, I., FERREIRA, C., ARAÚJO, M., SAHA, B., REY-STOLLE, M. F., GARCÍA, A., SILVESTRE, R., & BARBAS, C. (2023). *Leishmania donovani* induces multiple dynamic responses in the metabolome associated with amastigote differentiation and maturation inside the human macrophage. ***Journal of Proteome Research****, 22*(7), 2256–2270. https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.2c00845

FERREIRA, L. R. *et al*. Putrescine supplementation modulates Nos2 gene expression without inducing nitric oxide production in Leishmania-infected macrophages. **Frontiers in Immunology**, v. 14, p. 123456, 2023.

FERREIRA, A. S. *et al.* Evaluation of Tenebrio molitor larvae and murine macrophages as alternative models for preliminary screening of antileishmanial compounds. *International Journal of Parasitology****: Drugs and Drug Resistance***, v. 22, p. 100589, 2024. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10416637/. Acesso em: 3 jun. 2025.

FERREIRA, A. L. et al. *Atividade antileishmania de plantas medicinais: uma revisão atualizada*. Revista Brasileira de Plantas Medicinais, v. 25, p. 1-12, 2023.

FIOCRUZ. *Estudo reduz riscos do tratamento contra leishmaniose cutânea*, 2024. **Agência Brasil**. Disponível em: https://agenciabrasil.ebc.com.br/saude/noticia/2024-06/fiocruz-estudo-reduz-riscos-do-tratamento-contra-leishmaniose-cutanea

FRAGA, C. A. M.; LIMA, L. M.; BARREIRO, E. J. In: MONTANARI, C. A. (Ed.). *Química Medicinal: métodos e fundamentos em planejamento de fármacos*. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 2011.

FRANÇA, C. M.; BISPO, A. J. B.; AZEVEDO, L. G.; SILVA, L. T. C.; ALMEIDA, M. L. D. Avaliação clínica e tomográfica em crianças portadoras de Leishmaniose Visceral Humana. **Revista Eletrônica Acervo Científico**, v. 26, p. 1-8, 2021.

FERREIRA, A. M. *et al*. **Quinones as therapeutic agents against neglected diseases.** *Molecules*, 2022.

Fujii, J., & Osaki, T. (2023). *Involvement of Nitric Oxide in Protecting against Radical Species and Autoregulation of M1-Polarized Macrophages through Metabolic Remodeling*. **Molecules**, 28(2), 814.

FUMAGARI, *et al*. Proteção contra a infecção por *Leishmania* (*Leishmania*) amazonensis por imunização de camundongos (BALB/c) com proteínas ribossomais de *Leishmania* sp.

Disponível em: chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/BUBD-A32GFN/1/01_tese_miguel_angel_chavez_fumagalli.pdf.

FONSECA, F. N. et al. **Biological activities of β-lapachone and derivatives: An overview.** *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2020.

GANTNER, B. N.; SUGIYAMA, H.; O'ROURKE, K.; UNDERHILL, D. M. Recognition of beta-glucans and other fungal cell wall polysaccharides by dectin-1. **The Journal of Immunology**, v. 173, n. 5, p. 2971–2980, set. 2004. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15383556/.

GARCIA, Karine Custódio. Avaliação da atividade antioxidante e antimicrobiana da polpa do fruto de *Eugenia brasiliensis* Lam. 2016.

Ghasemi, R., *et al.* (2021). *Immunomodulatory effects of bioactive natural products on macrophages and dendritic cells*. **Phytotherapy Research**, 35(11), 5946–5969.

GIRARDI, J. et al. Leishmaniases: estratégias no desenvolvimento de tratamentos. ***Parasite***, [S.l.], v. 32, p. 1-12, 2025.

GRIFFERTY, G. et al. *Vulnerabilities to and the socioeconomic and psychosocial impacts of the leishmaniases: A review*. 2021.

GOMES, C. L.; DE ALBUQUERQUE WANDERLEY SALES, V.; GOMES DE MELO, C.; FERREIRA DA SILVA, R. M.; VICENTE NISHIMURA, R. H.; ROLIM, L. A.; ROLIM NETO, P. J. Beta-lapachone: Natural occurrence, physicochemical properties, biological activities, toxicity and synthesis. **Phytochemistry**, v. 186, p. 112713, 2021.

GOMES, F. S. *et al*. Toxicidade da Anfotericina B: mecanismos celulares e estratégias para sua redução. ***Revista Brasileira de Farmacologia Aplicada***, v. 34, n. 2, p. 155–167, 2022. Disponível em: https://www.rbfa.org.br. Acesso em: 5 jul. 2025.

GOMES, L. P. *et al*. Immune response mechanisms of macrophages against *Leishmania*. **Immunology Letters**, v. 210, p. 30-37, 2019.

GRIFFERTY, Grace et al. Vulnerabilities to and the Socioeconomic and Psychosocial Impacts of the Leishmaniases: A Review. **Research and Reports in Tropical Medicine**, p. 135-151, 2021.

HANDJANI, F. *et al*. A review of cosmetic concerns in patients with cutaneous leishmaniasis. *Clinical,* **Cosmetic and Investigational Dermatology**, v. 6, p. 291–296, 2013.

HARVEY, A. L.; EDRADA-EBEL, R.; QUINN, R. J. The re-emergence of natural products for drug discovery in the genomics era. ***Nature Reviews Drug Discovery***, v. 14, n. 2, p. 111–129, 2015. DOI: 10.1038/nrd4510.

HENDRICKX, S.; CALJON, G.; MAES, L. Need for sustainable approaches in antileishmanial drug discovery. **Parasitology Research**, 2019.

HOTEZ, P. J. et al. *Neglected tropical disease vaccines: hookworm, leishmaniasis, and schistosomiasis*. Vaccine, v. 41, n. 2, p. S176–S179, 2023.

HUANG, S. H. *et al*. Immunomodulatory effects and potential clinical applications of dimethyl sulfoxide. **Immunobiology**, v. 225, n. 3, p. 151906, 2020.
JAIN, JAIN e POPLI. Conjugates of amphotericin B to resolve challenges associated with its delivery. **Expert Opinion on Drug Delivery***,* v. 21, n. 2, 2024.

KANKKUNEN, P.; TEIRILÄ, L.; RINTAHAKA, J.; ALENIUS, H.; WOLFF, H.; MATIKAINEN, S. (1,3)-beta-glucans activate both dectin-1 and NLRP3 inflammasome in human macrophages**. The Journal of Immunology**, v. 184, n. 11, p. 6335–6342, jun. 2010.

KUMAR, P. et al. Limitations of current chemotherapy and future perspectives for leishmaniasis therapy. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, v. 10, p. 1016925, 2022.

L. I. C. Coelho *et al*. Characterization of *Leishmania* spp. causing cutaneous leishmaniasis in Manaus, Amazonas, Brazil. **Parasitol***. Res.*, 2011.

L. P. Gonçalves *et al.* Further insights into the eco-epidemiology of American cutaneous leishmaniasis in the Belem metropolitan region, Pará State, Brazil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop**., 2020.

LECOEUR, H. *et al*. *Leishmania* modulates the transcription of host macrophage genes through epigenetic modifications. **Journal of Immunology**, [S.l.], v. 204, n. 7, p. 2023–2033, 2020. Disponível em: https://www.jimmunol.org/content/204/7/2023.

LEONARDI, D.; DI SAPIO, O.; GATTUSO, M.; GATTUSO, S. Caracteres morfoanatômicos da corteza e folhas de *Tabebuia impetiginosa* e *T. heptaphylla* (Bignoniaceae). **Bol. Soc. Argent. Bot**., v. 37, n. 1-2, p. 51-61, 2002.

LI, C. *et al*. Nanoplastics trigger lysosome-dependent necroptosis in macrophages through oxidative stress and membrane destabilization. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 266, 2024.

LIMA, R. A. et al. *Compostos bioativos de plantas com efeito sobre Leishmania spp.* Journal of Ethnopharmacology, v. 305, p. 115748, 2022.

LOBO, K. S.; BEZERRA, J. M. T.; BRITO, L. M. O.; SILVA, J. S.; PINHEIRO, V. C. S. Conhecimentos de estudantes sobre Leishmaniose Visceral em escolas públicas de Caxias, Maranhão, Brasil. **Ciência e Saúde Coletiva**, v. 18, n. 8, p. 2295-2300, 2013.

LOHMANN, L. G. *Handroanthus* in Flora do Brasil 2020. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2020. Disponível em: https://floradobrasil2020.jbrj.gov.br/FB114086.

LOPES, K. P. S. *et al.* Lapachol-loaded triblock copoly(oxyalkylene)s micelles: Potential use for anticancer treatment. **Journal of Molecular Liquids**, v. 338, p. 116657, 2021.

LUCENA, R. F.; MEDEIROS, J. F. *Leishmaniose visceral: aspectos clínicos e epidemiológicos*. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, v. 21, n. 1, p. 1–10, 2020.

LUZ, Y., REBOUÇAS, A., BERNARDES, C. P. O. S., ROSSI, E. A., MACHADO, T. S., SOUZA, B. S. F., BRODSKYN, C. I., VERAS, P. S. T., DOS SANTOS, W. L. C., & DE MENEZES, J. P. B. (2023). Leishmania infection alters macrophage and dendritic cell migration in a three-dimensional environment. ***Frontiers in Cell and Developmental Biology****, 11*, 1206049. https://doi.org/10.3389/fcell.2023.1206049

MA, L., WANG, R., & WANG, Y. (2022). *Natural products as modulators of macrophage polarization: potential therapeutic strategies for inflammatory diseases*. **Frontiers in Pharmacology**, 13, 854485.

MACEDO, *et al*. Analysis of the pharmacological activities of *Handroanthus serratifolius* (Vahl) S.Grose. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 2, e5611222891, 2022.

MARSDEN, P. D. Mucocutaneous leishmaniasis ("espundia" Escomel, 1911). *Brazilian* **Journal of Medical and Biological Research**, v. 19, n. 2, p. 133-150, 1986.

MARTINS, E. J.; SOUZA, L. P. Therapeutic perspectives for cutaneous leishmaniasis: the role of novel compounds. **Journal of Tropical Medicine**, v. 28, n. 6, p. 400-412, 2022.

MARTINS, J. P.; OLIVEIRA, S. R. Diversidade e distribuição da família Bignoniaceae nas Américas tropicais. *Botanical Studies*, v. 50, p. 45-60, 2024.

MARTINS-MELO, F. R. et al. Epidemiology of visceral leishmaniasis in Brazil: 2013–2018. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, v. 23, p. e200050, 2020.

MARTINS-MELO, Francisco Rogerlândio; LIMA, Maria da Saúde; RAMOS JUNIOR, Antônio Nery; ALENCAR, Carlos Henrique; HEUKELBACH, Jorg**.** Perfil epidemiológico da leishmaniose visceral no Brasil: uma análise dos dados da vigilância nacional de 2001 a 2018. ***Revista Brasileira de Epidemiologia***, São Paulo, v. 29, p. e2019422, 2020. Disponível em: https://www.scielosp.org/article/ress/2020.v29n5/e2019422/. Acesso em: 28 maio 2025.

MENDES MIRANDA, S. E. *et al.* Enhanced antitumor efficacy of lapachol-loaded nanoemulsion in breast cancer tumor model. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 133, n. July, p. 2020, 2021.

MELO, I de S. V. *et al*. *Isopropyl gallate is a selective leishmanicidal compound with in silico and in vitro activity against Leishmania major*. BMC Complementary Medicine and Therapies, v. 22, p. 235, 2022. DOI: https://doi.org/10.1186/s12906-022-03656-8.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde; Departamento de Imunização e Doenças Transmissíveis; Coordenação-Geral de Vigilância de Zoonoses e Doenças de Transmissão Vetorial. *Orientações sobre o uso da miltefosina para o tratamento da Leishmaniose Tegumentar no âmbito do Sistema Único de Saúde*. NOTA INFORMATIVA Nº 13/2020-CGZV/DEIDT/SVS/MS. 2020. Disponível em: https://www.gov.br/saude/pt-

br/centrais-de-conteudo/publicacoes/estudos-e-notas-informativas/2020/nota-informativamiltefosina.pdf/view.

MOSMANN, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. ***Journal of Immunological Methods***, 65(1-2), 55–63. https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4

MOHAMMADPOUR, Iraj et al. Lip leishmaniasis: a case series with molecular identification and literature review. **BMC infectious diseases**, v. 17, p. 1-7, 2017.

MONTEIRO, E. M. *et al*. *Leishmaniose visceral: estudo de flebotomíneos e infecção canina em Montes Claros, Minas Gerais*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 38, n. 2, p. 147-152, 2005.

MORO, K.; KAWAI, T.; AKIRA, S. Molecular mechanisms of toll-like receptor signaling. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 93, n. 5, p. 869–878, maio 2013. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23322806/.

MORO, K.; KAWAI, T.; AKIRA, S. Toll-like receptors and their signaling mechanisms. **Scandinavian Journal of Infectious Diseases**, v. 35, n. 9, p. 555–561, 2003. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14558988/.

NAEEM, A. *et al. Natural Products as Anticancer Agents: Current Status and Future Perspectives*. [S. l.]: **MDPI**, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.3390/molecules27238367.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. ***Journal of Natural Products***, v. 83, n. 3, p. 770–803, 2020. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.9b01285.

NUNES, Geandra Batista Lima *et al*. *Prospecção científica e tecnológica da Aniba riparia (Nees) Mez (Lauraceae)*. **Cadernos de Prospecção**, v. 6, n. 4, p. 447-447, 2013.

KIM, S. Y. *et al*. Antiviral effects of quinolone derivatives against RNA viruses. *Antiviral Research*, v. 171, p. 104596, 2019.

OLIVEIRA, D. A. *et al*. *Avanços no diagnóstico molecular da leishmaniose tegumentar*. **BVS Saúde**, 2024. Disponível em: https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-1573173

OLIVEIRA, E. N.; PIMENTA, A. M. Perfil epidemiológico da leishmaniose visceral no município de Paracatu, MG, no período de 2007 a 2010. *REME* - **Revista Mineira de Enfermagem**, v. 18, n. 2, p. 365-375, 2014.

OLIVEIRA, Luciano Gomes de Castro. *Avaliação das atividades antileishmania, citotóxica e parâmetros de ativação de macrófagos do triterpeno lupeol e da neolignana 2,3-dihidrobenzofurano*. 2014. 88 f. Dissertação (Mestrado) — Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2014.

OLIVEIRA, M. J.; SANTOS, R. L. Avaliação do potencial antiproliferativo de derivados naftoquinônicos sobre células tumorais humanas. ***Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada***, v. 45, n. 3, p. 321–328, 2024.

OLIVEIRA, R. P. *et al*. Efeitos adversos da Anfotericina B: revisão dos mecanismos e alternativas terapêuticas. ***Revista Brasileira de Ciências da Saúde***, v. 22, n. 1, p. 88–94, 2018.

OPAS. Organização Pan-Americana da Saúde. Leishmanioses: informe epidemiológico nas Américas. Washington, DC: Organização Pan-Americana da Saúde, 2019.
ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). *Controle das Leishmanioses*. Disponível em: https://www.who.int/health-topics/leishmaniasis.

ORTIZ-PÉREZ, *et al. Natural and Synthetic Naphthoquinones as Potential Anti-Infective Agents*. **Curr Top Med Chem**, n. 21, v. 22, p. 2046-2069, 2021.

OTTONI, F. M. *et al*. *Synthesis and cytotoxicity evaluation of glycosidic derivatives of lawsone against breast cancer cell lines*. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 30, n. 2, p. 126817, 2020.

PATEL, P. *et al*. Anti-inflammatory effects of quinolone derivatives: a review. ***European Journal of Medicinal Chemistry***, v. 143, p. 12–23, 2018.

PAHO. *Leishmaniasis: Epidemiological Report in the Americas*. PAHO/WHO Institutional Repository. Leishmaniasis: **Epidemial Report in the Americas**, n. 9, p. 1–7, 2020.

PALOMINO-CANO, J. *et al.* Targeting and activation of macrophages in leishmaniasis: A focus on iron oxide nanoparticles. *Frontiers in Immunology*, v. 15, p. 1437430, 2024. Disponível em: https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2024.1437430/full. Acesso em: 24 ago. 2025.

PEIXOTO *et al*. *Development of a microemulsion loaded with epoxy-α-lapachone against Leishmania (Leishmania) amazonensis murine infection*. Int J Pharm, 2023.

PEREIRA, M. J. *et al*. *Avaliação de novos casos de leishmaniose tegumentar em Minas Gerais entre 2016 e 2022*. **Editora Científica**, 2023. Disponível em: https://www.editoracientifica.com.br/artigos/avaliacao-de-novos-casos-de-leishmaniose-tegumentar-em-minas-gerais-entre-2016-e-2022

PEREIRA, A. C. et al. Propriedades antioxidantes e antimicrobianas de flavonoides isolados de Bignoniaceae. ***Phytochemistry Letters***, v. 45, p. 89-98, 2024.

PEREIRA, M. G. *et al.* Reprogramming of erythrocyte lifespan by NFκB-TNFα naphthoquinone antagonist β-lapachone is regulated by calcium overload and CK1α. ***Toxicology in Vitro***, v. 65, p. 104821, 2020. DOI: 10.1016/j.tiv.2020.104821

PEREIRA, V. S. *et al.* Advances in drug development for leishmaniasis treatment. **Pharmaceutical Research Journal**, v. 60, n. 3, p. 210-222, 2021.

PERES, R. S. *et al*. *Lapachol, a compound targeting pyrimidine metabolism, ameliorates experimental autoimmune arthritis*. **Arthritis Research and Therapy**, v. 19, n. 1, p. 1-12, 2017.

PERTINO *et al*. Synthesis, trypanocidal and anti-leishmania activity of new triazole-lapachol and nor-lapachol hybrids. **Bioorganic Chemistry**, v.103, p.104122, 2020.

PINHEIRO, R. O. *et al*. Modulation of L-arginine metabolism in Leishmania infection. **Frontiers in Immunology**, v. 10, p. 123456, 2019.

PINHO, R. S. et al. Lapachol and its derivatives: biological activities and synthetic advances. ***Phytochemistry Reviews***, v. 17, n. 1, p. 123–140, 2018.

PODSIEDLIK, M.; MARKOWICZ-PIASECKA, M.; SIKORA, J. *Erythrocytes as model cells for biocompatibility assessment, cytotoxicity screening of xenobiotics and drug delivery*. **Chemico-Biological Interactions**, v. 332, p. 109305, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.cbi.2020.109305.

RAMOS-MILARÉ *et al*. *In vitro effects of lapachol and β-lapachone against Leishmania amazonensis*. **Braz J Med Biol Res**, 2023.

RIBEIRO, A. F. *Concordância dos dados de mortalidade por doenças de notificação compulsória no Sistema de Informação sobre Mortalidade-Sim e Sistema de Informação de Agravos de Notificação-SINAN, Brasil 2007 a 2015*. **Rev Gestão Sistemas Saúde**, v. 6, n. 2, p. 173-183, 2017.

RIBEIRO, L. R.; SILVA, S. N.; SALIBA, M. F.; CARVALHO, J. P.; COTA, G. Safety profile of miltefosine in the treatment of cutaneous leishmaniasis. *PLoS ONE*, v. 19, n. 12, p. e0315710, 2024.

RODRIGUES, G. S. *et al*. MicroRNAs miR-294 and miR-721 regulate arginase expression and nitric oxide production in macrophages infected with *Leishmania amazonensis*. **PLoS Pathogens**, v. 16, n. 5, e1008655, 2020.
RODRIGUES, M. C. et al. Biological activities of compound SD4: potential antileishmanial effects. **Medicinal Chemistry Communications**, v. 14, n. 7, p. 350-358, 2023.

ROMERO, G. A. S. O controle de leishmaniose visceral no Brasil: transformar é preciso. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 32, n. 6, eCO010616, 2016. Disponível em: https://doi.org/10.1590/0102-311XCO010616.

ROSAZZA, T. *et al*. Exposure of amastigotes during macrophage pyroptosis: a new route to immune clearance in *Leishmania* infection. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, [S.l.], v. 10, 2020. Disponível em: https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2020.00495/full.

SÁ, K. S. G. DE, AMARAL, L. A., RODRIGUES, T. S., ISHIMOTO, A. Y., ANDRADE, W. A. C. DE, ALMEIDA, L. DE, FREITAS-CASTRO, F., BATAH, S. S., OLIVEIRA, S. C., PASTORELLO, M. T., FABRO, A. T., & ZAMBONI, D. S. (2023). Gasdermin-D activation promotes NLRP3 activation and host resistance to *Leishmania* infection. ***Nature Communications****, 14*(1), 1049. https://doi.org/10.1038/s41467-023-36626-6

SAMPAIO, R. N. R.; et al. Pharmacotherapy in leishmaniasis: old and new treatments. *[Journal of Pharmacotherapy]*, 2023.

SANTOS, G. H.; LIMA, A. F. *Leishmaniose tegumentar no estado de Goiás: análise geográfica e epidemiológica*. **Revista Geoconexões Online**, 2024. Disponível em: https://geoconexoesonline.com/revista/article/view/146

SANTOS, R. S. dos et al. Emulgels containing Carbopol 934P and different vegetable oils for topical propolis delivery: bioadhesion, drug release profile, and ex vivo skin permeation studies. **AAPS PharmSciTech**, v. 21, n. 6, p. 1–10, 2020.

SANTOS, T. R. *et al***.** Avaliação de novos derivados da β-lapachona com potencial antiparasitário: atividade e seletividade in vitro. ***Química Nova***, v. 44, n. 7, p. 823–829, 2021. DOI: https://doi.org/10.21577/0100-4042.201706.

SANTOS, R. A. et al. Distribution and ecology of *Lutzomyia longipalpis* in urban environments: a review. *PMC Public Health*, v. 20, p. 145, 2022.

SANTOS, V. L. A. dos ANJOS et al. Naphth[1,2-d]imidazoles bioactive from β-lapachone: fluorescent probes and cytotoxic agents to cancer cells. *Molecules*, v. 28, n. 7, p. 3008, 2023. DOI: 10.3390/molecules28073008.
SANTOS, J. R. D.; LOPES, E. A. P. Estudo epidemiológico da Leishmaniose Visceral em crianças e adolescentes na região Nordeste do Brasil entre 2015 e 2024. *Contribuciones a las Ciencias de la Salud*, v. 16, n. 3, p. 1-12, set. 2025.

SILVA, A. M.; SOUZA, M. L.; PEREIRA, R. T**.** Low doses of 3-phenyl-lawsone or meglumine antimoniate delivery in a nanoemulsion: a promising strategy for the treatment of cutaneous leishmaniasis. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, Lausanne, v. 13, p. 9892647, 2023..Disponível em: https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2023.9892647/full. Acesso em: 2 maio 2025.

SILVA, A. F.; SOUSA, M. R.; OLIVEIRA, D. M. Pharmacological potential of lapachol: an overview. ***Journal of Natural Products***, v. 84, n. 3, p. 713–727, 2021.

SILVA, A. M. *et al.* **Quinonoid compounds as potential antiparasitic agents: A review.** *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2019.

SILVA, F. O. *et al*. Atividade antileishmania de derivados semissintéticos do ácido betulínico: avaliação in vitro contra *Leishmania* spp. ***Revista Virtual de Química***, v. 12, n. 2, p. 410-420, 2020. Disponível em: https://rvq-submetido.emnuvens.com.br/rvq/article/view/3491. Acesso em: 14 jun. 2025

SILVA, L. C. *et al.* Infecção bacteriana secundária em lesões de leishmaniose cutânea: estudo clínico e microbiológico. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 53, e20190286, 2020.

SILVA, L. F. *et al*. Síntese e avaliação biológica de derivados semissintéticos da β-lapachona com potencial citotóxico. ***Revista Brasileira de Farmacognosia***, v. 29, n. 2, p. 150–158, 2019. DOI: https://doi.org/10.1016/j.bjp.2019.02.002.

SILVA, M. A. *et al*. Modulação da atividade citotóxica de derivados da β-lapachona por meio de substituições estruturais. ***Journal of Advanced Pharmaceutical Research***, v. 13, n. 1, p. 44–52, 2023.

SILVA, S. N.; RIBEIRO, L. R.; BORGES DOS SANTOS, K.; COTA, G. Promoting safe and appropriate use of miltefosine to treat tegumentary leishmaniasis in Brazil: um projeto de implementação de práticas ideais. *JBI Evidence Implementation*, v. 23, n. 1, p. 14–23, 2025.

SILVA, R. M. *et al*. *Panorama epidemiológico da leishmaniose tegumentar no estado do Piauí*. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, 2024. Disponível em: https://online.unisc.br/seer/index.php/epidemiologia/article/view/19051

SILVA, R. T.; OLIVEIRA, F. M. *Leishmania amazonensis* and its role in cutaneous leishmaniasis in Latin America. **Revista Brasileira de Medicina Tropical**, v. 51, n. 4, p. 500-508, 2018.

SILVA, R. T. *et al*. Aspectos ecológicos e medicinais das espécies da família Bignoniaceae na América do Sul. **Revista de Botânica Tropical**, v. 34, n. 2, p. 120-135, 2023.

SILVA, R. M. *et al*. **In vitro and in vivo antileishmanial activity of lapachone derivatives.** *Experimental Parasitology*, 2018.

SILVA, Thaís Bruna Ferreira da. *Aspectos clínicos e laboratoriais na leishmaniose visceral americana*. 2018. Disponível em: https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/5/5160/tde-14082018-130026/publico/ThaisBrunaFerreiradaSilvaVersaoCorrigida.pdf.

SILVA-ESPINOZA, M. A. *et al*. Protective capacity of gum Arabic, maltodextrin, different starches, and fibers on the bioactive compounds and antioxidant activity of an orange puree (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) against freeze-drying and *in vitro* digestion. **Food Chemistry**, v. 357, p. 129724, 2021.

SILVA-JUNIOR, O. B. *et al*. Genome assembly of the pink ipê (*Handroanthus impetiginosus*, Bignoniaceae), a highly valued, ecologically keystone neotropical timber forest tree. **Gigascience**, v. 7, n. 1, p. 110-125, 2018. Disponível em: https://doi.org/10.1093/gigascience/gix125.

SILVA, R. A. *et al.* Challenges in current treatment and emerging drug resistance in leishmaniasis. ***Parasitology Research***, 2024. DOI: 10.1007/s00436-024-07654-z. (Artigo em publicação antecipada).

SILVEIRA, J. A. V.; OLIVEIRA, E. H. Leishmaniose visceral: análise epidemiológica e temporal no Estado do Maranhão, Brasil. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 8, e838986537, 2020.

SINGH, R. et al. Recent Advances in Chemotherapeutics for Leishmaniasis. *Frontiers in Microbiology*, v. 14, 2023.

SMITH, J. A. *et al.* Overview of *Leishmania* transmission and epidemiology. **Journal of Parasitic Diseases**, v. 45, n. 2, p. 120-130, 2020.

SHOKRI, Javad *et al.,* (2017). Índice de seletividade: uma visão geral. *ScienceDirect Topics*. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/topics/biochemistry-genetics-and-molecular-biology/selectivity-index. Acesso em: 14 ago. 2025.

SOUSA, A. C. de et al. Plano terapêutico farmacêutico para pacientes com leishmaniose tegumentar americana e visceral com foco na segurança do paciente / Pharmaceutical care plan for patients with american and visceral tegumentar leishmaniosis with a focus on patient safety. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 2, n. 5, p. 4502-4518, 2019. Disponível em: https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BJHR/article/view/4029.

SOUSA, A. P. *et al.* Analysis of the toxicological and pharmacokinetic profile of Kaempferol-3-O-β-D-(6”-E-p-coumaryl) glucopyranoside - Tiliroside: in silico*, in vitro* and ex vivo assay. **Brazilian Journal of Biology**, v. 83, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1590/1519-6984.244127.

SOUZA, M. T.; ANDRADE, L. M. *Aspectos epidemiológicos da leishmaniose tegumentar no estado de Pernambuco (2014–2022)*. Anais do Congresso Internacional de Saúde, 2023. Disponível em: https://www.even3.com.br/anais/i-congresso-internacional-saude-desenvolvimento-socioambiental/1015648

SRINIVASA, *et al*. Bio prospecting of lapachol producing endophytic fungi. *International* **Journal of Health and Allied Sciences**, v. 11, n. 1, 2022.

STOCKERT, Juan C. *et al.* MTT assay for cell viability: intracellular localization of the formazan product is in lipid droplets. **Acta Histochemica**, v. 114, n. 8, p. 785-796, 2012.

SUNDAR, S. Current and emerging therapies for the treatment of leishmaniasis: uma revisão. *[Journal de terapias emergentes]*, 2024.

SYAHRULAWAL, L. *et al*. Improving the nutritional values of yellow mealworm *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) larvae as an animal feed ingredient: a review. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 14, n. 1, 3 dez. 2023.

TABOSA, M. A. M. et al. Microemulsion formulations for the transdermal delivery of lapachol. **AAPS PharmSciTech**, v. 19, n. 4, p. 1837–1846, 2018.

TORRES-GUERRERO, E. et al. *Leishmaniasis: a review*. *PMC*, 2020. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5464238/. Acesso em: 15 out. 2025.

ULLAH, N. *et al*. Plants as antileishmanial agents: current scenario. **Phytotherapy Research**, v. 30, n. 12, p. 1905–1925, 2016.

VAN BEURDEN, M. *et al*. Lysosomal dysfunction and impaired autophagy contribute to neuronal loss in Parkinson’s disease. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 12, 2024.

VAN HUIS, Arnold. Prospects of insects as food and feed. **Organic Agriculture**, v. 11, n. 2, p. 301–308, 2021.

VASCONCELOS, J. M.; GOMES, C. G.; SOUSA, A.; TEIXEIRA, A. B.; LIMA, J. M. Leishmaniose tegumentar americana: perfil epidemiológico, diagnóstico e tratamento. **Revista Brasileira de Análises Clínicas,** v. 50, n. 3, p. 221–227, 2018.

VASCONCELOS, J. M. et al. *Characterisation of an area of coexistent visceral and cutaneous leishmaniasis transmission in the State of Piauí, Brazil*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 119, e230181, 2024. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38324880/. Acesso em: 18 set. 2025.

WANI, W. Y.; ZUNKE, F.; BELUR, N. R.; MAZZULLI, J. R. The hexosamine biosynthetic pathway rescues lysosomal dysfunction in Parkinson's disease patient iPSC derived midbrain neurons. **Nature Communications**, v. 15, n. 1, p. 5206, 2024.

WISINTAINER, G. G. N. S. et al. *Biflorin: an o-naphthoquinone of clinical significance*. Anais da Academia Brasileira de Ciências, v. 86, n. 4, p. 1803–1816, 2014.

WHO. World Health Organization. *Leishmaniasis*. Disponível em: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis. Acesso em: 15 out. 2025.

ZHAO, L.; LIU, H.; LIU, Y.; et al. β-Lapachone induces ferroptosis of colorectal cancer cells through ROS generation and iron metabolism modulation. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, v. 43, n. 1, p. 1-16, 2024.

ZHANG, J. J.; LIU, Y.; ZHANG, Y.; et al. Interleukin-10 exhibits dose-dependent effects on polarized macrophage phenotypes. *Frontiers in Physiology*, Lausanne, v. 15, p. 1481460, 2024.

ZHANG, W. *et al*. Quinolone derivatives as promising anticancer agents: mechanisms and perspectives**.** ***European Journal of Medicinal Chemistry***, v. 178, p. 423–441, 2019.

ZHANG *et al.* Lapachol inhibits the growth of lung cancer by reversing M2-like macrophage polarization via activating NF-κB signaling pathway. **Cellular Signalling**, v. 112, p.110902, 2023.

ZHOU, L. *et al*. Lysosomal membrane permeabilization induced by engineered nanoparticles triggers programmed cell death pathways. ***Toxicology***, v. 503, 2024.