

ESTUDO DA INFLUÊNCIA DO LAPACHOL NA ESTRUTURA DE MICROEMULSÕES PARA O TRATAMENTO DE LEISHMANIOSE

Suely M. Alves^{1*}; Guilherme Rodolfo S. de Araujo²; Ana Amélia M. Lira²; Victor Hugo V. Sarmiento¹

¹Programa de Pós-Graduação em Ciências Naturais, Universidade Federal de Sergipe, Avenida Vereador Olímpio Grande, S/N, Campus Prof. Alberto Carvalho, Itabaiana, CEP 49500-000, Brasil.

²Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Sergipe, Cidade Universitária Professor Aloísio de Campos, Avenida Marechal Rondon s/n, Jardim Rosa Elze, São Cristóvão, CEP 49100-000, Brasil.

*suely.moraes.alves@gmail.com

Palavras-Chave: Doenças negligenciadas, administração tópica, caracterização estrutural.

Introdução

As doenças tropicais negligenciadas são um conjunto de doenças infecciosas que afetam milhões de pessoas ao redor do mundo e todos os anos, milhares de brasileiros estão em risco de contrair alguma dessas doenças. Dentre estas, a leishmaniose pode afetar tanto humanos quanto cães. De acordo com o Informe Epidemiológico de Leishmanioses das Américas (Dez/2023), o Brasil registrou 12.878 casos de leishmaniose em 2022, com uma tendência de aumento (OMS, 2023).

As leishmanioses são ocasionadas por parasitos da família *Trypanosomatidae*, do gênero *Leishmania*, e se manifestam em duas formas clínicas principais: tegumentar (cutânea ou mucocutânea) e visceral (WHO, 2022). O tratamento da leishmaniose envolve o uso de medicamentos que eliminam o parasita, como o antimoniato de meglumina (COSTA et al., 2017), a anfotericina B (MINUZZO, et al., 2022), a pentamidina (BRIONES et al., 2021).

No entanto, o tratamento dessa enfermidade requer longa duração, alto custo e pode apresentar vários efeitos adversos. Devido a todas essas desvantagens e dificuldades no tratamento com os principais fármacos, surge um crescente interesse na busca de novos agentes com características leishmanicidas que apresentem menos efeitos colaterais. Dentre estas, podemos citar o lapachol, um composto natural que possui atividade leishmanicida já demonstrada por trabalhos anteriores (TABOSA et al., 2018; ARAÚJO et al., 2019).

O lapachol, um composto natural da classe das naftoquinonas, possui diversas atividades farmacológicas (MIRANDA et al., 2021), tais como atividade antibacteriana (FIGUEREDO et al., 2020), anti-inflamatória (MOKARIZADEH et al., 2020), leishmanicida (ARAÚJO et al., 2019; BRIONES et al., 2021). Além de ser obtido a partir de fontes naturais, possui características lipofílicas que facilitam a administração e retenção na pele (TABOSA et al., 2018).

Na literatura, há estudos que demonstram a viabilidade do lapachol no tratamento tópico, inclusive no tratamento da leishmaniose (PERTINO et al., 2020; PEREIRA et al., 2020; LOPES et al., 2021). A administração tópica de fármacos é uma via alternativa da administração oral e oferece vantagens como diminuição dos efeitos colaterais, no entanto, pode levar à ocorrência de irritações ou alergias na pele. Desta forma, alguns sistemas de liberação de fármacos têm se destacado como efetivos promotores de permeação. As microemulsões são um tipo de sistema nanoestruturado estabilizado por tensoativos que tem se destacado por conferir vantagens, tais como aumento da solubilização de princípios ativos, estabilidade termodinâmica e promover liberação controlada, além de potencializar o efeito biológico de fármacos e

compostos bioativos (PAVONI et al., 2019). A combinação das microemulsões com o lapachol podem melhorar essas propriedades.

Neste contexto, este estudo teve como objetivo estudar o efeito da adição de lapachol nas microemulsões para o tratamento de leishmaniose.

Material e Métodos

Para síntese das microemulsões foram utilizados Polissorbato 20 (Tween 20), Eumulgin Co 40, *Citrus sinensis* (OECS) e água destilada foram usados como tensoativo (T), co-tensoativo (Co-t), fase oleosa (FO) e fase aquosa (FA), respectivamente. A composição centesimal dos sistemas foram 5% de FO, 45% de T/Cot (1:1), 50% de FA e 0,2% de lapachol. O T/Co-t e OECS foram homogeneizados por agitação magnética por 20 min, seguida de titulação lenta da FA sob homogeneização constante.

Para produzir sistemas contendo fármacos, o lapachol foi incorporada ao T/Co-t e OECS antes da adição da fase aquosa. A concentração final de lapachol nas formulações foi adicionada. Todo o procedimento foi realizado em temperatura ambiente e protegido da luz branca. Após a produção, as amostras foram mantidas em repouso por 5 dias, em temperatura ambiente, e protegidas da luz, a fim de garantir a estabilização termodinâmica dos sistemas. As amostras sem e com lapachol foram nomeadas, respectivamente, de ME0 e ME1.

A influência da adição do lapachol na nanoestrutura foi estudada utilizando microscopia de luz polarizada (MLP) e análise reológica de fluxo. Para a identificação do comportamento isotrópico ou anisotrópico nos sistemas selecionados foram realizadas por MLP utilizando um polarizador de marca Olympus modelo BX51, equipado com uma câmera digital (Evolution LC Color) e software analisador de imagem (Pixel Link).

Para analisar o material sob a luz polarizada, uma gota da amostra é pressionada entre lâmina de vidro e lamínula e, em seguida, a amostra é analisada através de microscópio de luz polarizada em temperatura ambiente (25°C) com aumento de 10x. O comportamento reológico dos sistemas foi determinado em Reômetro Modular Compacto (MCR 302, Anton Paar) com geometria do tipo cone (ângulo de 1°, 49,97 mm de diâmetro e distância de 96 µm entre as placas). A tensão de cisalhamento foi avaliada aplicando-se uma taxa de cisalhamento entre 0,1 e 200 s⁻¹. Todas as análises ocorreram a temperatura de 25°C e em triplicata.

Resultados e Discussão

Na Figura 1 são apresentadas as fotomicrografias das amostras ME0 (A) e ME1 (B) obtidas por MLP. As formulações apresentaram um campo escuro, característico de um comportamento isotrópico, ou seja, as amostras sob o plano da luz polarizada não desviaram a luz, as quais se apresentaram com as mesmas propriedades ópticas em todas as direções. Tal comportamento é esperado em sistemas microemulsionados, uma vez que seu tamanho nanométrico é incapaz de desviar o feixe de luz e gerar imagens (MACHADO et al., 2020).

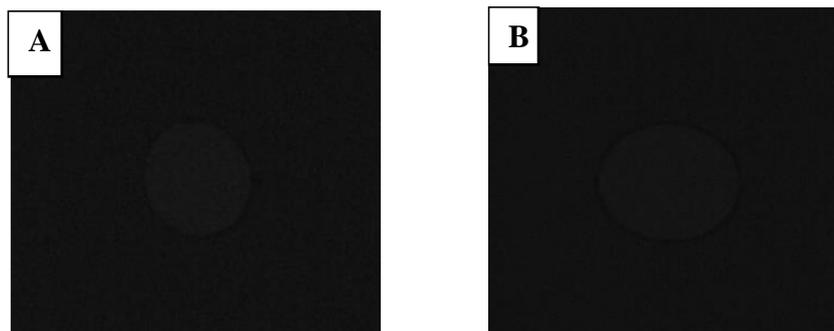


Figura 1: Fotomicrografias das amostras ME0 (A) e ME1 (B) obtidas por microscopia de luz polarizada.

O comportamento reológico das amostras foi avaliado e os reogramas são apresentados na Figura 2. A partir dos perfis, é possível observar que os sistemas apresentaram comportamento newtoniano, uma vez que a relação entre a tensão e taxa de cisalhamento é linear e obedece a lei de Newton para os fluidos (Equação 1). (BLANK et al., 2021).

$$\sigma = \eta \dot{\gamma} \quad \text{Equação 1}$$

Sendo η a viscosidade em Pa.s, σ a tensão de cisalhamento (Pa) e $\dot{\gamma}$ a taxa de cisalhamento (s^{-1}).

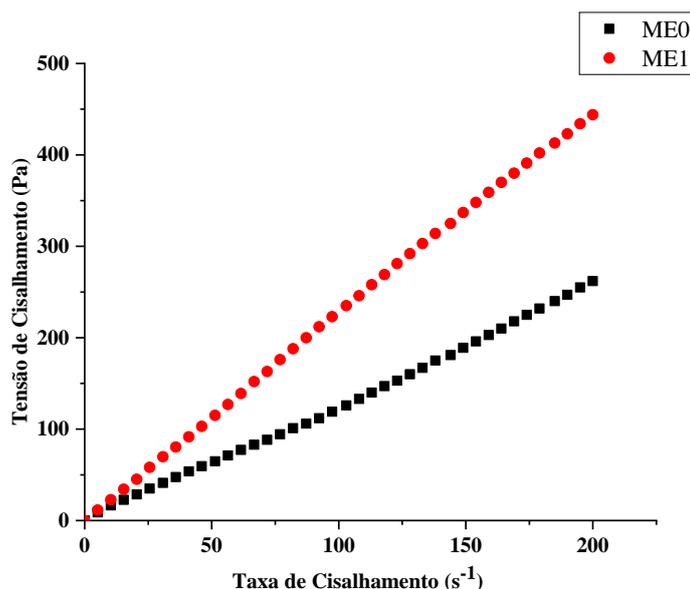


Figura 2: Reograma do comportamento reológico das formulações ME0 e ME1

Os valores de R^2 próximo a 0,9999 indicaram uma boa correlação entre os dados experimentais e o ajuste do modelo teórico. Sistemas de microemulsão exibem comportamento newtoniano como resultado do pequeno tamanho das gotículas e baixa interação entre elas (MACHADO et al. 2020). Com a incorporação do lapachol na formulação houve um aumento da viscosidade. Isso pode ser devido à natureza lipofílica do lapachol. Um fato interessante apresentado na literatura quanto a quantidade de fase aquosa é que em sistemas com até 50%

há um aumento de viscosidade, isso pode estar relacionado ao processo de inchamento das estruturas reversas até que estruturas bicontínuas sejam formadas (TABOSA et al. 2018).

Segundo Araujo et al. (2022), esses sistemas são chamados de microemulsão bicontínuas, uma vez que apresentam domínios de fases aquosa e oleosa entrelaçadas na forma de canais estabilizados por regiões de surfactante. O estudo desenvolveu microemulsões e avaliou a influência do comportamento da fase microemulsionada na permeação cutânea da nifedipina, fármaco que possui característica lipofílica, como o lapachol.

Machado et al. (2020), em seu estudo sobre sistemas microemulsionados, observaram que o comportamento reológico de microemulsão bicontínua tende a uma maior viscosidade e em testes de permeação e retenção cutânea maior permeabilidade do fármaco na pele.

Os resultados da análise de MLP e análises reológicas, mostra que os sistemas desenvolvidos possuem características físico-químicas da microemulsão e a incorporação do lapachol não afeta significativamente essas propriedades.

Conclusões

O presente estudo demonstrou que, em condições adequadas, é possível incorporar lapachol em óleo essencial de *C. sinensis*, água destilada, Tween 20 e o Eumulgin Co 40 como tensoativo e co-tensoativo, respectivamente. Os sistemas obtidos isotrópicos, comportamento newtoniano e a quantidade de lapachol utilizada na síntese não influenciou na estrutura final. Apesar de não ter realizados ensaios de atividade biológica, o sistema é promissor considerando as características estruturais aqui apresentadas.

Agradecimentos

PPGCN, CLQM, UFS.

Referências

- ARAUJO, G. R.; MENDONÇA, C. M. G.; XAVIER, D. O.; MATOS, S.; SANTOS, Q. N. S.; OTUBO, L.; ARAÚJO, A. S.; DUARTE, M. C.; LIRA, A. A. M.; NUNES, R. S.; SARMENTO, V. H. V. Microemulsions formed by PPG-5-CETETH-20 at low concentrations for transdermal delivery of nifedipine: Structural and in vitro study. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 214, 2022.
- ARAÚJO, I. A. C.; DE PAULA, R. C.; ALVES, C. L.; FARIA, K. F.; OLIVEIRA, M. M.; MENDES, G. G.; DIAS, E. M. F. A.; RIBEIRO, R. R.; OLIVEIRA, A. B.; SILVA, S. M.D. Efficacy of lapachol on treatment of cutaneous and visceral leishmaniasis. *Experimental Parasitology*, 199, 67–73, 2019.
- BLANK, B.; HU, V.; PAPPAS, F.; VAN DER WAL, W. Effect of Lateral and Stress-Dependent Viscosity Variations on GIA Induced Uplift Rates in the Amundsen Sea Embayment. *Geochemistry, Geophysics, Geosystems*, 22, 1–28, 2021
- BRIONES, C. A. N.; CID, A. G.; ROMERO, A. I.; VILLEGAS, F. M.; BERMÚDEZ, M. J. An appraisal of the scientific current situation and new perspectives in the treatment of cutaneous leishmaniasis. *Acta Tropica*, 221, 2021.
- COSTA, E. V. S.; BRÍGIDO, H. P. C.; J. V. S.; FERREIRA, M. R. C.; BRANDÃO, G. C.; DOLABELA, M. F. Antileishmanial Activity of *Handroanthus serratifolius* (Vahl) S. Grose (Bignoniaceae). *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2–4, 2017.
- FIGUEREDO, F. G.; RAMOS, I. T.; PAZ, J. A.; SILVA, T. M. S.; CAMARA, C. A.; OLIVEIRA-TINTINO, C. D. M.; TINTINO, S. R.; FARIAS, P. A. M.; COUTINHO, H. D. M.; FONTELES, M. M. F. In silico evaluation of the antibacterial and modulatory activity of lapachol and nor-lapachol derivatives. *Microbial Pathogenesis*, 144, 104181, 2020.
- LOPES, K. P. S.; PINHEIRO, D. P.; NETO, J. F. C.; GONÇALVES, T. A.; PEREIRA, S. A.; PESSOA, C.; VIEIRA, I. G. P.; RIBEIRO, M. E. N. P.; YEATES, S. G.; RICARDO, N. M. P. S. Lapachol-loaded triblock



copoly(oxyalkylene)s micelles: Potential use for anticancer treatment. *Journal of Molecular Liquids*, 338, 116657, 2021.

MACHADO, M.; DANTAS, I. L.; GALVÃO, J. G.; LIMA, A. D.; GONSALVES, J. K. M. C.; ALMEIDA, E. D. P.; ARAUJO, G. R. S.; LEAL, L. B.; SARMENTO, V. H. V.; NUNES, R. S.; LIRA, A. A. M. Microemulsion systems to enhance the transdermal permeation of ivermectin in dogs: A preliminary in vitro study. *Research in Veterinary Science*, 133, 31–38, 2020.

MINUZZO, E. A. S.; LIMA, R. S.; SILVA, G. A.; COSTA, K. A.; NETO, C. A. Efeitos adversos da anfotericina b contrapondo-se à adesão ao tratamento da leishmaniose tegumentar. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 26, 101969, 2022.

MIRANDA, S. E. M.; LEMOS, J. A.; FERNANDES, R. S.; SILVA, J. O.; OTTONI, F. M.; TOWNSEND, D. T.; RUBELLO, D.; ALVES, R. J.; CASSALI, G. D.; FERREIRA, A. M.; BARROS, A. L. B. Enhanced antitumor efficacy of lapachol-loaded nanoemulsion in breast cancer tumor model. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 133, 2021.

MOKARIZADEH, N. KARIMI, P.; KAZEMZADEH, H.; MAROUFI, N. F.; SADIGH-ETEGHAD, S.; NIKANFAR, S.; RASHTCHIZADEH, N. An evaluation on potential anti-inflammatory effects of β -lapachone. *International Immunopharmacology*, 87, 2020.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Leishmanioses: Informe epidemiológico das Américas. Núm. 12 (dezembro de 2023), 14, 2024. Disponível em: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/59170> . Acessado em: 11/09/2024.

PAVONI, L.; MAGGI, F.; MANCIANTI, F.; NARDONI, S.; EBANI, V. V.; CESPI, M.; BONACUCINA, G.; PALMIERI, F. G. Microemulsions: An effective encapsulation tool to enhance the antimicrobial activity of selected EOs. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 53, 101101, 2019.

PEREIRA, S. A.; SANTOS, S. B. F.; RODRIGUES, F. A. M.; FECHINE, L. M.U.D.; VIEIRA, I. G. P.; DENARDIN, J. C.; ARANEDA, F.; RIBEIRO, M. F. N. P.; GRAMOSA, V. N.; RICARDO, M. P. S. N. Hydroxyethyl starch nanocapsules by multiple nanoemulsions for carrying and controlled release of lapachol. *Materials Letters*, 274, 1–3, 2020.

TABOSA, M. A. M.; DE ANDRADE A. R. B.; LIRA, A. A. M.; SARMENTO, V. H. V.; DE SANTANA, D. P.; LEAL, L. B. Microemulsion Formulations for the Transdermal Delivery of Lapachol. *AAPS PharmSciTech*, 19, 4, 1837–1846, 2018.