



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO – UFMA
CENTRO DE CIÊNCIAS DE IMPERATRIZ - CCIM
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E TECNOLOGIA

LOURIANE NUNES GOMES

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL LEISHMANICIDA DA PRÓPOLIS VERMELHA
PRODUZIDA NO BIOMA AMAZÔNICO

IMPERATRIZ - MA

2023

LOURIANE NUNES GOMES

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL LEISHMANICIDA DA PRÓPOLIS VERMELHA
PRODUZIDA NO BIOMA AMAZÔNICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Tecnologia da Universidade Federal do Maranhão, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Saúde e Tecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Richard Pereira Dutra

Coorientador: Prof^a.Dr^a. Lucilene Amorim
Silva

IMPERATRIZ - MA

2023

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

NUNES GOMES, LOURIANE.

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL LEISHMANICIDA DA PRÓPOLIS
VERMELHA PRODUZIDA NO BIOMA AMAZÔNICO / LOURIANE NUNES
GOMES. - 2023.

51 f.

Coorientador(a): LUCILENE AMORIM SILVA.

Orientador(a): RICHARD PEREIRA DUTRA.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em
Saúde e Tecnologia/ccim, Universidade Federal do Maranhão,
IMPERATRIZ, 2023.

1. Atividade citotóxica. 2. Atividade leishmanicida.
3. Própolis vermelha. I. AMORIM SILVA, LUCILENE. II.
PEREIRA DUTRA, RICHARD. III. Título.

LOURIANE NUNES GOMES

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL LEISHMANICIDA DA PRÓPOLIS VERMELHA
PRODUZIDA NO BIOMA AMAZÔNICO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Tecnologia da Universidade Federal do Maranhão, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Saúde e Tecnologia.

Aprovada em: ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Richard Pereira Dutra (Orientador)
Universidade Federal do Maranhão (UFMA)

Profa. Dra. Lucilene Amorim Silva (Coorientadora)
Universidade Federal do Maranhão (UFMA)

Profª Drª Dayanne da Silva Freitas
Universidade Federal do Maranhão (UFMA)

Profª Drª Izabel Cristina Portela Bogéa Serra
Universidade CEUMA

“Não é sobre chegar no topo do mundo e saber que venceu. É sobre escalar e sentir que o caminho te fortaleceu”

Ana Vilela

DEDICATÓRIA

A minha família... Meus pais, Ana Lúcia e Lourival Gomes, pelo amor incondicional, companheirismo, por sempre sonhar os meus sonhos, fazer sempre o possível para que estes fossem realizados. Aos meus irmãos Lillian e Lourival Filho, sobrinho Luis Davi e ao meu amado Wellysson Roberto pelos momentos vividos, por torcerem e vibrarem com minhas conquistas.

Este trabalho é nosso!

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo dom da vida, e por estar sempre ao meu lado, conduzindo o meu caminho e não permitindo que eu fraquejasse e desistisse frente as dificuldades enfrentadas.

Aos meus pais pelo incentivo, por ter priorizado sempre a educação e oferecendo sempre o melhor caminho a ser seguido, com apoio incondicional para superar os obstáculos, e por sempre sonhar os meus sonhos.

Aos meus irmãos, Lillian e Lourival Filho, por sempre estarem ao meu lado, me incentivando e torcendo pelas minhas conquistas.

Ao meu pequeno príncipe Luís Davi que faz os meus dias mais alegres e leves.

À Wellysson Roberto, meu companheiro de todas as horas, se fazendo presente nos momentos bons e nos ruins. Obrigada pelo apoio, pelo conforto e pela torcida de sempre.

Amo você!

Aos meus orientadores, Lucilene Amorim, Richard Pereira Dutra e Aramys Silva dos Reis pela dedicação e paciência que foram fundamentais para a realização deste trabalho. Serei sempre grata pela orientação e pela confiança.

Aos amigos que o LPI (Laboratório de Patologia e Imunoparasitologia) me deu, Luis Douglas e Caroline Martins obrigada por toda parceria pela troca e por serem amigos. Obrigada a Marina Barros, Sthephany Goulart, Aline Santana, Sabrina Luíza e Arthur André.

À dona Sonia, por todo carinho e cuidado.

Aos laboratórios LIF (Laboratório de Imunofisiologia), LPI (Laboratório de Patologia e Imunoparasitologia), LAFIT (Laboratório de Fisiopatologia e Investigação Terapêutica) e LQPN (Laboratório de Química de Produtos Naturais).

À Universidade Federal do Maranhão e ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Tecnologia – UFMA, pela oportunidade de desenvolvimento da pesquisa.

Às agências financiadoras CAPES, CNPq e FAPEMA pelos auxílios fornecidos.

Muito Obrigada

RESUMO

A própolis é uma substância produzida pelas abelhas que apresenta diversas atividades biológicas, incluindo propriedades antimicrobianas e anti-inflamatórias. Na Amazônia brasileira, existe uma grande diversidade de espécies vegetais que favorecem a apicultura e a produção de produtos apícolas como a própolis. Recentemente, uma variedade de própolis vermelha foi identificada no bioma amazônico, apresentando um potencial promissor para aplicações terapêuticas, especialmente no tratamento de doenças negligenciadas, como a leishmaniose. Essa própolis é rica em isoflavonoides, com destaque para a isoflavona calicosina, seu marcador químico. A leishmaniose é uma doença tropical causada por protozoários do gênero *Leishmania*, transmitida pela picada de mosquitos infectados. Essa doença representa um sério problema de saúde pública em todo o mundo, especialmente em países em desenvolvimento, onde as opções de tratamento são limitadas e a resistência aos medicamentos é comum. No presente estudo, avaliamos a atividade leishmanicida de uma fração clorofórmica da própolis vermelha da Amazônia brasileira contra *L. amazonensis*, um dos principais causadores da leishmaniose cutânea, em ensaios *in vitro*. Os resultados mostraram que a fração clorofórmica da própolis apresentou atividade direta nas formas promastigotas e amastigotas axênicas de *L. amazonensis*, induzindo a apoptose como mecanismo de morte celular. Além disso, a própolis vermelha apresentou baixa toxicidade para células normais, o que indica um potencial promissor como fonte de novos compostos antileishmania. A própolis vermelha pode oferecer uma alternativa viável e segura, como fonte de novos compostos com atividade leishmanicida e com menor toxicidade para as células normais.

Palavras-chave: Própolis vermelha; Atividade leishmanicida; Atividade citotóxica

ABSTRACT

Propolis is a substance produced by bees that presents several biological activities, including antimicrobial and anti-inflammatory properties. In the Brazilian Amazon, there is a great diversity of plant species that favor apiculture and the production of bee products such as propolis. Recently, a variety of red propolis was identified in the Amazon biome, presenting promising potential for therapeutic applications, especially in the treatment of neglected diseases such as leishmaniasis. This propolis contains a high concentration of isoflavonoids, particularly the isoflavone calycosin, which serves as its chemical marker. Leishmaniasis is a tropical disease caused by protozoan parasites belonging to the genus *Leishmania* and transmitted through the bites of infected mosquitoes. Leishmaniasis disease represents a serious public health problem worldwide, especially in developing countries where treatment options are limited and drug resistance is common. In the present study, we evaluated the leishmanicidal activity of a fraction red propolis from the Brazilian Amazon against *L. amazonensis*, one of the main causes of cutaneous leishmaniasis, in in vitro assays. The results showed that the chloroform fraction of the propolis presented direct activity on promastigote and axenic amastigote forms of *L. amazonensis*, inducing apoptosis as a mechanism of cell death. In addition, the red propolis presented low toxicity to normal cells, indicating promising potential as a source of new antileishmanial compounds. Red propolis may offer a viable and safe alternative as a source of new compounds with leishmanicidal activity and lower toxicity to normal cells.

Keywords: Red Propolis; Leishmanial Activity; Cytotoxic Activity

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Anf B – Anfotericina B
BE/LA – Brometo de Etídio / Laranja de Acridina
CC₅₀ – Concentração Citotóxica de 50% para as células
CDC – Center of Disease Control and Prevention
DO – Densidade Óptica
DMSO – Dimetil sulfóxido
DNDI – Iniciativa de Drogas para Doenças Negligenciadas
EBPV – Extrato Bruto Própolis Vermelha
FDA – Federal Drug Administration
Fr-AE – Fração Acetato de Etila
Fr-CL – Fração Clorofórmica
IC₅₀ – Concentração inibitória de 50 %
I.S – Índice de Seletividade
LC – Leishmaniose Mucocutânea
LCD – Leishmaniose Cutânea Difusa
LTA – Leishmaniose Tegumentar Americana
LT – Leishmaniose Tegumentar
LV – Leishmaniose Visceral
MTT – (3-(4,5-dimetiltiazol-2yl)-2,5-di- fenil brometo de tetrazolina)
OMS – Organização Mundial da Saúde
OPAS – Organização Pan-Americana da Saúde
PAHO - PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION
PBS – Tampão fosfato-salino
SUS – Sistema Único de saúde
SFB – Soro Fetal Bovino
WHO – World Health Organization

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Formas promastigotas e amastigotas de <i>L. amazonensis</i>	18
Figura 2 - Ciclo da leishmaniose.....	20
Figura 3 - . Lesão ulcerada.....	21
Figura 4 - <i>Dalbergia ecastophyllum</i>	27
Figura 1 - Viabilidade de promastigota de <i>L. amazonensis</i>	37
Figura 2 - Viabilidade de amastigotas axênicas de <i>L. amazonensis</i> tratadas por 24 horas com a Fr-CL de própolis vermelha.....	38
Figura 3 – Marcação de células necróticas e apoptóticas com BE/LA nas formas promastigotas e amastigotas de <i>L. amazonensis</i>	39

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
2. OBJETIVO	16
2.1 Objetivos específicos.....	Error! Bookmark not defined.
3. REVISÃO DE LITERATURA	17
3.1 Epidemiologia.....	17
3.2 Patogenicidade da <i>Leishmania</i>	17
3.3 Ciclo Biológico.....	19
3.4 Leishmaniose Tegumentar Americana e Suas Manifestações Clínicas.....	20
3.5 Tratamento.....	22
3.6 Produtos Naturais	24
3.7 Própolis.....	25
3.8 Própolis Vermelha	26
3.9 Atividades Biológicas da Própolis Vermelha.....	27
4. CAPÍTULO I.....	29
INTRODUÇÃO	32
MATERIAS E MÉTODOS	33
Obtenção e fracionamento do extrato de própolis vermelha	33
Manutenção de promastigotas de <i>L. amazonensis</i>	34
Diferenciação das promastigotas de <i>L. amazonensis</i> em amastigotas axênica.....	34
Atividade leishmanicida <i>in vitro</i>	34
Ensaio <i>in vitro</i> de citotoxicidade de macrófagos RAW 264.7	35
Ensaio de MTT.....	35
Ensaio para o tipo de morte celular via marcação de laranja de acridina/brometo de etídio (AO/EB)	36
Análise estatística	36
RESULTADOS	37

Fr-CL da própolis vermelha amazônica apresenta efeito citotóxico sobre a forma promastigota de <i>L. amazonensis</i>	37
Fr-CL da própolis vermelha amazônica apresenta efeito citotóxico sobre a forma amastigota de <i>L. amazonensis</i>	38
Fr-CL da própolis vermelha amazônica induz apoptose em promastigotas e amastigota de <i>L. amazonensis</i>	38
DISCUSSÃO.....	40
CONCLUSÃO.....	42
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	43
REFERÊNCIAS.....	44