

PERSPECTIVAS PARA O DESENVOLVIMENTO DE NOVOS SISTEMAS DE DELIVERY PARA O TRATAMENTO DAS LEISHMANIOSES

Luciana Maria Ribeiro Antinarelli

RESUMO: As leishmanioses são doenças com elevada incidência em nosso país, e o tratamento apresenta limitações relacionadas à elevada toxicidade, regime terapêutico prolongado e/ou custo dos fármacos. Nos últimos anos, diversos fármacos e novas moléculas antileishmaniais com atividade promissora tem sido avaliados em sistema de drug delivery à base de micelas poliméricas de Poloxâmero P407, a fim de diminuir a toxicidade e aumentar a eficácia dos tratamentos. Os resultados obtidos até o momento reforçam a possibilidade de desenvolvimento destes sistemas de delivery para o tratamento das leishmanioses, com a incorporação de drogas seguras e eficazes, no propósito de reduzir os seus efeitos colaterais, bem como apresentar um custo acessível para a população

Palavras-chave: Leishmanioses, tratamento, nanotecnologia

O conhecimento científico da área da saúde (médica, odontológica e farmacêutica) no campo de nanotecnologia tem avançado rapidamente nos últimos anos, encontrando aplicações em diversas finalidades, tais como: desenvolvimento de dispositivos biomédicos (sistemas de hemodiálise, biossensores, tubos de circulação sanguínea), produtos odontológicos (materiais para implantes e prótese dentária), materiais implantáveis (próteses ortopédicas, fios de sutura, placas, válvulas cardíacas, lentes), dispositivos para liberação controlada de medicamentos e vacinas (na forma de partículas, implantes subdérmicos e filmes), kits de diagnóstico ultra sensíveis e rápidos usando nano sensores, dentre outras. Estima-se que nos próximos anos metade do setor farmacêutico dependerá de nanomateriais para o desenvolvimento de novos produtos farmacêuticos com potencial de movimentar em torno de 1,3 trilhões de dólares do mercado farmacêutico mundial (ROSSI-BERGMANN, 2008; FENTON et al, 2019).

As leishmanioses são doenças infecto-parasitárias com elevada incidência em nosso país e cujo tratamento é considerado insatisfatório em função de sérias limitações relacionadas ao repertório restrito de fármacos disponíveis, elevado grau de toxicidade, baixa eficácia, administração sistêmica, em regime terapêutico prolongado e com alto custo das formulações. Aliado a isto, o surgimento de resistência parasitária já é realidade em diferentes regiões endêmicas, como no Brasil. Até hoje, o *Food and Drug Administration* (FDA) não aprovou uma vacina contra as leishmanioses em humanos, sendo o tratamento farmacológico a principal alternativa de controle da doença. Apesar da baixa letalidade das manifestações tegumentares, o tratamento é importante, principalmente para acelerar o processo de cura das lesões e reduzir o risco de cicatriz, além de prevenir a disseminação do parasito, impedindo a progressão da doença. O tratamento visa também interromper a evolução para formas clínicas mais graves e de desfecho desfavorável, sobretudo na leishmaniose mucosa, que é geralmente resultante da evolução da doença não tratada ou com tratamento inadequado; e a leishmaniose cutânea difusa, que apresenta fraca resposta aos protocolos clínicos de tratamento atualmente estabelecidos (REINTHINGER et al, 2007; David & Craft, 2009; SILVEIRA et al., 2009; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017). No caso da leishmaniose visceral, o tratamento adequado é fundamental para impedir a evolução para quadros graves e com elevada letalidade (MURRAY et al, 2005). Dentre as principais limitações que impedem a aprovação para uso clínico de fármacos com efeito terapêutico comprovado são os efeitos tóxicos resultantes da ação inespecífica sobre células humanas sadias o que pode levar à ocorrência de uma série de efeitos colaterais; além

de problemas relacionados a farmacocinética como a sua rápida metabolização no organismo, baixa solubilidade plasmática e/ou baixa biodisponibilidade no organismo (ROSSI-BERGMANN, 2008).

Diante das limitações do tratamento atual das leishmanioses e considerando o baixo interesse do mercado farmacêutico na pesquisa e desenvolvimento (P&D) de novos fármacos para doenças tropicais negligenciadas (DTNs), faz-se necessário novas estratégias que aumentem o acesso ao tratamento e a cura da doença, como a incorporação de novas opções terapêuticas mais eficazes, seguras e de baixo custo para o tratamento no Sistema Único de Saúde (SUS) (CHARLTON et al, 2018).

Haja vista que o desenvolvimento de medicamentos é um processo muito longo e financeiramente dispendioso, uma estratégia promissora baseia-se no desenvolvimento de novas tecnologias farmacêuticas para otimizar a utilização de fármacos já aprovados para uso em humanos, bem como moléculas inéditas com atividade antileishmanial reconhecida com o objetivo de aumentar sua eficácia terapêutica e minimizar a ocorrência de efeitos colaterais (HUGHES et al, 2011; LAGE et al, 2016; AKBARI et al, 2017). Para a terapia das leishmanioses, a tecnologia de entrega de fármacos é uma abordagem interessante para direcionar a ação específica do fármaco no sítio-alvo, uma vez as nanopartículas são facilmente internalizados pelo sistema fagocitário do baço e fígado, liberando a droga em concentrações adequadas no compartimento ácido no interior do macrófago (vacúolo parasitóforo), onde o parasito se hospeda (KUMAR et al., 2014; BRUNI et al., 2017; SEVERINO et al, 2022).

Neste contexto, os sistemas de entrega de fármacos por meio do seu encapsulamento em micro e nanopartículas apresenta uma série de vantagens em relação aos tratamentos convencionais, a saber: 1) propriedade de liberação sítio-específica, direcionando o princípio ativo para o seu alvo específico (célula ou tecido), reduzindo a toxidez para outras células e o surgimento de efeitos colaterais; 2) redução da toxicidade das drogas convencionais, pois reduz a quantidade de fármaco necessária para atingir o efeito terapêutico desejado; 3) permite a liberação prolongada de fármacos, com maior controle da liberação do princípio ativo, diminuindo o aparecimento de doses subterapêuticas; 4) menor número de doses administradas aos pacientes devido a uma liberação mais lenta do fármaco, resultando em melhor adesão do tratamento pelos pacientes e conseqüente redução dos custos do tratamento; 5) proteção do princípio ativo da degradação metabólica, aumentando sua biodisponibilidade; 6) permite a incorporação de mais de uma droga no mesmo sistema

carreador, o que pode resultar um efeito sinérgico e interessante frente ao crescente problema de resistência à fármacos (DE ALMEIDA et al, 2017; DE SOUZA et al, 2018; PALMA et al, 2018).

Com esta finalidade, diversos sistemas micro/nanoparticulados para o carreamento de fármacos antileishmaniais têm sido desenvolvidos. Os primeiros a serem aprovados para uso sistêmico por via endovenosa foram os lipossomas. Atualmente, três formulações lipossomais da anfotericina B estão disponíveis para uso clínico: a AmpB lipossomal (AmpBisome®), o complexo lipídico de AmpB (Abelcet®, ABLC) e a dispersão coloidal de AmpB (Amphocil®, ABCD). Todas essas formulações apresentam eficácia semelhante e diferem quanto à estrutura, forma, tamanho, composição e conteúdo do fármaco (GOTO et al, 2010; PALMA et al, 2018). Além disso, a anfotericina B lipossomal apresenta menor toxicidade que o tratamento convencional, reduzido efeitos colaterais, sendo a primeira opção de tratamento em pacientes que com insuficiência renal ou cardíaca, transplantados renais e gestantes, porém a sua utilização permanece limitada, principalmente, pelo custo oneroso do tratamento (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017, PALMA et al, 2018).

Mais recente, diversos polímeros biodegradáveis estão sendo utilizados no preparo de micro e nanopartículas, incluindo os polímeros sintéticos poli-(lático-co-glicólico) (PLGA) e policaprolactonas (PCL), além dos biopolímeros naturais quitosana e polihidroxialcanoatos (BRUNI et al, 2017). Na indústria farmacêutica esses dispositivos de liberação de medicamentos vêm sendo utilizados na forma de filmes, implantes subcutâneos e transdérmicos, aumentando a absorção da droga através da pele; bem como na forma de nanopartículas para a administração oral de fármacos insolúveis em água com o objetivo de melhorar a biodisponibilidade e diminuir a toxicidade de fármacos em função da sua elevada permeabilidade pela mucosa (AKASH et al, 2015).

Nos últimos anos, o desenvolvimento de micelas poliméricas como sistemas inovadores de entrega de fármacos tem despertado muito interesse. Micelas poliméricas são constituídas por copolímeros anfifílicos que, em função do seu baixo peso molecular se associam espontaneamente em ambiente aquoso, formando uma camada exterior hidrofílica e um núcleo hidrofóbico, no interior do qual ocorre a incorporação dos ativos farmacêuticos (KATAOKA et al, 2001; MAZZAFERRO et al., 2013). Estes produtos apresentam uma série de propriedades favoráveis, como: tamanho reduzido (entre 10-100 nm), o que facilita o seu carreamento até o seu alvo de ação e consequente

fagocitose pelos macrófagos, biodegradabilidade e boa estabilidade termodinâmica que influenciam na velocidade de liberação do fármaco e baixa toxicidade (BRUNI et al, 2017). Apresentam ainda características atrativas se comparadas a formulações lipossomais, tais como: facilidade de síntese, boa estabilidade a 4°C e à temperatura ambiente e baixo custo da formulação (JAIN et al, 2003).

Na terapia antitumoral, o benefício do uso deste sistema de entrega de fármacos é notório, com aumento da eficácia terapêutica e diminuição da toxicidade das drogas atualmente utilizadas (THAKOR et al, 2013). Recentemente, uma nanoformulação da miltefosina à base do Poloxamero 407[®] foi avaliada *in vitro* para o tratamento do carcinoma mamário e demonstrou uma redução significativa do efeito hemolítico, um sério efeito adverso associado à miltefosina quando administrada pela via endovenosa e oral, com manutenção da sua eficácia antitumoral em níveis similares aos da droga livre (VALENZUELA-OSES et al, 2017).

No tratamento da leishmaniose cutânea e visceral formulações da anfotericina B à base de Poloxâmero 407[®] tem demonstrado elevada eficácia (MENDONÇA et al., 2016; SINGH et al, 2017; MENDONÇA et al, 2018). Esta formulação polimérica da anfotericina B foi altamente eficaz no tratamento de camundongos BALB/c infectados com *L. amazonensis* quando administrada pela via subcutânea, com redução expressiva da carga parasitária na pata infectada quanto no baço, fígado e linfonodo drenante (MENDONÇA et al, 2016). Um atrativo para o uso deste sistema carreador para o tratamento da LT pela via subcutânea é o fato de que as micelas poliméricas à base de Poloxamero 407[®] transformam-se em um gel semirrígido quando em contato com o tecido local, aumentando a permeação e liberação da droga através da pele, carreando o fármaco até a célula infectada e resultando na sua ação direta sobre os parasitos no sítio da infecção. À medida que a matriz de gel é diluída pelos fluidos corporais, ocorre a liberação gradativa da droga na circulação sistêmica, permitindo sua ação sistêmica de forma controlada (BARICHELLO et al, 1999; AKASH et al, 2015).

Outra formulação inovadora da anfotericina B incorporada a micelas poliméricas do Poloxamero 407[®] revestida com quitosana foi avaliada com sucesso no tratamento de hamsters infectados com *L. donovani*. A incorporação da quitosana sobre a estrutura micelar com sua inerente ação imunomodulatória estimulou o desenvolvimento de resposta imune do tipo Th1, além de favorecer uma maior especificidade da droga para os macrófagos, levando assim a uma alta concentração no sítio alvo (SINGH et al, 2017).

MENDONÇA e colaboradores (2018) fizeram uma avaliação comparativa da eficácia das micelas poliméricas da AmpB à base de Poloxamero 407[®] com a AmpB livre e AmpB lipossomal (AmpBisome[®]) no tratamento da infecção murina com *L. infantum*, demonstrou uma melhor resposta terapêutica e menor toxicidade renal e hepática no grupo de animais tratados com AmpB à base de Poloxâmero 407[®] em comparação com a AmpB livre e a AmpB lipossomal.

BRUGUÉS e colaboradores (2015) desenvolveram uma formulação do Poloxâmero 407[®] contendo paramomicina e demonstraram sua expressiva atividade frente a promastigotas de *L. infantum* e *L. major*, entretanto, sua eficácia *in vivo* ainda não foi avaliada. Recentemente, uma formulação polimérica de PLGA contendo pentamidina, fármaco utilizado no tratamento convencional com efeitos adversos importantes como hipoglicemia e desenvolvimento de diabetes insulino-dependente, mostrou resultado promissor para o tratamento da leishmaniose visceral. Ensaio *in vivo* demonstraram a eficácia do uso oral da nanoformulação em camundongos BALB/c infectados, com redução significativa do peso do órgão e da carga parasitária no baço se comparada a pentamidina livre, abrindo uma nova perspectiva para a utilização pela via oral do fármaco na prática clínica (VALLE et al, 2019).

Outra molécula antileishmanial avaliada com sucesso quando incorporada ao Poloxâmero 407[®] foi a 8-hidroxiquinolina (8-HQN). O composto apresentou elevada eficácia no tratamento dos camundongos infectados com *L. amazonensis* e *L. infantum*, com redução expressiva a carga parasitária da lesão e dos órgãos infectados nos modelos avaliados; a qual foi acompanhada pela indução de resposta imune protetora do tipo Th1 com aumento nos níveis de IFN- γ , IL-12, GM-CSF e nitrito e baixa produção de IL-4, IL-10 e anticorpos IgG1 (DUARTE et al, 2016; LAGE et al, 2016). Em outro estudo, o Clioquinol, um derivado da 8-hidroxiquinolina foi incorporado em um sistema micelar baseado em Poloxamer 407 e usado para tratar infecções por *L. infantum* em camundongos. Assim como a 8-HQN, o tratamento com Clioquinol micelar induziu níveis significativamente mais altos de citocinas de perfil Th1, como IFN- γ , IL-12, GM-CSF e nitrito, bem como maior produção do isotipo IgG2a. A indução de resposta imune protetora foi acompanhada de redução significativa na carga parasitária dos órgãos (baço, fígado, medula óssea e linfonodos drenantes) em comparação com camundongos infectados tratados com Miltefosina como droga convencional (TAVARES et al, 2020).

Em outro estudo, avaliou-se a eficácia *in vivo* de um sal derivado de quinolona (QDS3) com atividade *in vitro* promissora para as espécies de *L. amazonensis* e *L. infantum* (CALIXTO et al, 2018; RIBEIRO ANTINARELLI et al, 2022). Os resultados *in vivo* demonstraram que a formulação do QDS3 em micelas de Poloxâmoro P407 foi altamente eficaz no tratamento de camundongos Balb/C infectados com *L. infantum*, reduzindo expressivamente a carga parasitária no fígado, baço, linfonodos de drenagem (dLN) e medula óssea, 1 e 15 dias após o tratamento, em comparação com o tratamento com a molécula na sua forma livre. Miltefosina, usada como fármaco de referência, mostrou eficácia parcial com redução do parasitismo apenas no baço e dLN. Além disso, os camundongos tratados com formulação micelar do QDS3 desenvolveram uma resposta imune Th1 protetora robusta, caracterizada por níveis elevados de IL-12, IFN- γ , GM-CSF e nitrito, juntamente com uma produção específica de anticorpos IgG2a. Em resumo, os resultados sugerem que a eficiência terapêutica da nanoformulação foi satisfatória, oferecendo possibilidades para o seu uso no tratamento contra a LV.

SOUSA-BATISTA e colaboradores (2018) testaram com sucesso o potencial das micropartículas de PLGA para veiculação de uma chalcona CH8 para o tratamento subcutâneo da leishmaniose cutânea em camundongos infectados com *L. amazonensis*. A injeção em dose única da CH8/PLGA reduziu a carga parasitária em 91%, enquanto o tratamento com antimoniato de meglumina foi o menos eficaz com redução da carga parasitária de apenas 36%, associado a toxicidade hepática, evidenciada pelos níveis séricos elevados de alanina aminotransferase. Logo, a proposta de um implante subcutâneo de PLGA contendo chalcona/CH8 de liberação sustentada pode ser usado de forma eficaz e segura para o tratamento em dose única da leishmaniose cutânea.

Dessa forma, em função dos diversos estudos já realizados, pode-se evidenciar que o desenvolvimento de novos sistemas de *delivery* de fármacos para o tratamento das leishmanioses é uma alternativa promissora, e que as nanoformulações farmacêuticas à base de micelas poliméricas permitem a incorporação de drogas seguras e eficazes, no propósito de se desenvolver um novo produto que seja capaz de, em um futuro próximo, ser avaliado em pacientes para a melhoria das condições atuais de tratamento das leishmanioses, no que tange à maior segurança de administração, com menor toxicidade sistêmica; melhor eficácia terapêutica e um baixo custo para a população (AKBARI et al, 2017).

Referências:

- AKASH, M.S. *et al.* Recent progress in biomedical applications of Pluronic (PF127): Pharmaceutical perspectives. *J Control Release.*, v. 209, p. 120-138, 2015.
- AKBARI, M. *et al.* Application of nanotechnology in treatment of leishmaniasis: A Review. *Acta Tropica*, v. 172, p. 86-90, 2017.
- BARICHELLO, J.M. *et al.* Absorption of insulin from Pluronic F-127 gels following subcutaneous administration in rats. *Int. J. Pharm.*, v. 184, 189e198, 1999.
- BRUGUÉS, A.P. *et al.* Developing cutaneous applications of paromomycin entrapped in stimuli-sensitive block copolymer nanogel dispersions. *Nanomedicine (Lond)*. v. 10, p. 227-240, 2015.
- BRUNI, N. *et al.* Nanostructured delivery systems with improved leishmanicidal activity: a critical review. *Int J Nanomedicine*, v. 12, p. 5289-5311, 2017.
- CALIXTO, S. L. *et al.* Novel organic salts based on quinoline derivatives: The in vitro activity trigger apoptosis inhibiting autophagy in *Leishmania* spp. *Chemico-biological interactions*, v. 293, p. 141-151, 2018.
- CHARLTON, R.L. *et al.* Repurposing as a strategy for the discovery of new anti-leishmanials: the-state-of-the-art. *Parasitology*, v. 145, p. 219-236, 2018.
- DAVID, C.V. *et al.* Cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. *Dermatologic Therapy*, v. 22, p. 491-502, 2009.
- DE ALMEIDA, L. *et al.* Nanotechnological Strategies for Treatment of Leishmaniasis-- A Review. *J Biomed Nanotechnol.* v. 13, p. 117-133, 2017.
- DE SOUZA, A. *et al.* Promising nanotherapy in treating leishmaniasis. *Int J Pharm.*, v. 547, p. 421-431, 2018.
- DUARTE, M. C. *et al.* Treatment of murine visceral leishmaniasis using an 8-hydroxyquinoline-containing polymeric micelle system. *Parasitology International*, v. 65, p. 728-736, 2016.
- FENTON, O.S. *et al.* Advances in Biomaterials for Drug Delivery. *Adv Mater.*p.1-56, 2019.
- GOTO, H. *et al.* Current diagnosis and treatment of cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. *Expert Rev Anti Infect Ther.*, v. 8, p. 419-433, 2010.
- HUGHES, J.P. *et al.* Principles of early drug discovery. *Br J Pharmacol.* v. 162, p.1239-1249, 2011.

JAIN, K.K. *et al.* Nanodiagnostics: application of nanotechnology in molecular diagnostics. *Expert Rev Mol Diagn.*, v. 3, p. 153-161, 2003.

KATAOKA, K. *et al.* Block copolymer micelles for drug delivery: design, characterization and biological significance. *Adv Drug Deliv Rev.*, v. 47, p. 113-131, 2001.

KUMAR, R. *et al.* Study the effects of PLGA-PEG encapsulated Amphotericin B nanoparticle drug delivery system against *Leishmania donovani*. *Drug delivery*, v. 22, p. 383-388, 2014.

LAGE, L.M. *et al.* An 8-hydroxyquinoline-containing polymeric micelle system is effective for the treatment of murine tegumentary leishmaniasis. *Parasitol Res.*, v. 15, p. 4083-4095, 2016.

MAZZAFERRO, S. *et al.* Oral delivery of anticancer drugs III: formulation using drug delivery systems. *Drug Discov Today.*, v. 18, p. 99-104, 2013.

MENDONÇA, D.V. *et al.* Poloxamer 407 (Pluronic®) F127)-based polymeric micelles for amphotericin B: In vitro biological activity, toxicity and in vivo therapeutic efficacy against murine tegumentary leishmaniasis. *Exp Parasitol.* v. 169, p. 34-42, 2016.

MENDONÇA, D.V.C. *et al.* Comparing the therapeutic efficacy of different amphotericin B-carrying delivery systems against visceral leishmaniasis. *Exp Parasitol.* v. 186, p. 24-35, 2018.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana 2ª edição atualizada, p. 1-191, 2017.

MURRAY, H.W. *et al.* Advances in Leishmaniasis. *The Lancet*, v. 366, p. 1561-1577, 2005.

PALMA, E. *et al.* Antileishmanial Activity of Amphotericin B-loaded-PLGA Nanoparticles: An Overview. *Materials (Basel)*, v. 11, p. E1167, 2018.

REITHINGER, R. *et al.* Cutaneous leishmaniasis. *The Lancet Infectious Diseases*, v.7, p. 581- 596, 2007.

RIBEIRO ANTINARELLI, L.M. *et al.* Parasitological and immunological evaluation of a quinoline derivative salt incorporated into a polymeric micelle formulation against *Leishmania infantum* infection. *Parasitology Research*, v. 121, p. 2129-2140, 2022.

ROSSI-BERGMANN, B. A nanotecnologia: da saúde para além do determinismo tecnológico. *Cienc. Cult.*, v. 60, p. 1-4, 2008.

SEVERINO, P. et al. A NOTECNOLOGIA APLICADA AO TRATAMENTO DA LEISHMANIOSE. Caderno De Graduação - Ciências Biológicas E Da Saúde - UNIT - SERGIPE, v. 7, p. 58, 2022.

SILVEIRA, F.T. et al. Immunopathogenic competences of *Leishmania (V.) braziliensis* and *L. (L.) amazonensis* in American cutaneous leishmaniasis. Parasite Immunology, v. 31, p. 423-431, 2009.

SINGH, P.K. et al. Chitosan coated PluronicF127 micelles for effective delivery of Amphotericin B in experimental visceral leishmaniasis. Int J Biol Macromol. v. 105, p. 1220-1231, 2017.

SOUSA-BATISTA, A.J. et al. Depot Subcutaneous Injection with Chalcone CH8-Loaded Poly(Lactic-Co-Glycolic Acid) Microspheres as a Single-Dose Treatment of Cutaneous Leishmaniasis. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, v. 62, p. e01822-17, 2018.

THAKOR, A.S. et al. Nanooncology: the future of cancer diagnosis and therapy. CA Cancer J Clin., v. 63, p. 395-418, 2013.

TAVARES, G.S.V. et al. A clioquinol-containing Pluronic® F127 polymeric micelle system is effective in the treatment of visceral leishmaniasis in a murine model. Parasite, v. 27, p. 1-12, 2020.

VALLE, I.V. et al. Oral pentamidine-loaded poly(d,l-lactic-co-glycolic) acid nanoparticles: an alternative approach for leishmaniasis treatment. Nanotechnology, v. 30, p. 455102, 2019.

VALENZUELA-OSES, J.K. et al. Development and characterization of miltefosine-loaded polymeric micelles for cancer treatment. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl., v. 81, p. 327-333, 2017.