

DETERMINAÇÃO DO POTENCIAL IN VITRO DA COMBINAÇÃO DE CINAMALDEÍDO E GLUCANTIME® CONTRA FORMAS AMASTIGOTAS DE *L. amazonensis*.

Alanis Boer dos Reis (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Prof^a Dr^a Áquila Carolina Fernandes Herculano Ramos Milaré, Prof^a Dr^a Aline Ávila Brustolin, Prof^a Dr^a Maria Valdrinez Campana Lonardoni (Orientador). E-mail: mvclonardoni@gmail.com

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/Maringá - PR.

Área: Saúde coletiva. **Subárea:** Medicina Preventiva

Palavras-chave: Glucantime®; leishmaniose; cinamaldeído.

RESUMO

A leishmaniose é uma doença infecciosa causada por parasitos do gênero *Leishmania*, transmitida pelo inseto flebotomíneo e representa um desafio de saúde pública devido às formas clínicas graves e às limitações dos tratamentos disponíveis, como toxicidade, resistência e necessidade de uso prolongado de antimoniais. Nesse contexto, o cinamaldeído, principal componente do óleo essencial da canela, surge como alternativa promissora, e sua associação com o Glucantime®, primeira opção de tratamento disponível, pode otimizar a eficácia terapêutica. O presente estudo avaliou essa combinação contra formas amastigotas de *Leishmania amazonensis*, analisando o índice de infecção e a concentração inibitória de 50% (IC₅₀). Para isso, macrófagos J774A.1 infectados foram tratados com diferentes concentrações dos compostos isolados e em associação. Os resultados mostraram que ambos os compostos isolados reduziram o índice de infecção em relação ao controle, embora o Sb⁺ 5 em IC₅₀/2 não tenha apresentado efeito relevante. As combinações revelaram maior eficácia, com destaque para cinamaldeído 2xIC₅₀ associado a Sb⁺ 5 IC₅₀/2, que teve o melhor resultado de índice de infecção em comparação ao controle positivo. Conclui-se que a associação dos compostos foi mais efetiva do que seu uso isolado, confirmando a hipótese inicial e indicando potencial terapêutico promissor, sinérgico, com possibilidade de reduzir a dose necessária de antimoniais e seus efeitos tóxicos.

INTRODUÇÃO

As leishmanioses são doenças infecciosas não contagiosas causadas por parasitos do gênero *Leishmania*, transmitida ao homem e outros mamíferos pela picada de fêmeas de flebotomíneos hematófagos. Apresenta duas formas clínicas principais: visceral (afetando órgãos internos) e tegumentar (comprometendo pele e/ou mucosas), sendo esta última um desafio de saúde pública em diversas regiões tropicais e subtropicais (TORRES-GUERRERO et al., 2022). O tratamento padrão utiliza antimoniais pentavalentes, como o Glucantime® e outros fármacos, como a

anfotericina B lipossomal. Contudo, esses medicamentos têm limitações, como alta toxicidade (hepatotoxicidade, cardiotoxicidade e nefrotoxicidade), necessidade de uso prolongado, administração parenteral e eficácia limitada, além de resistência (BRASIL, 2017). O cinamaldeído, principal componente do óleo essencial da canela (*Cinnamomum* sp.), tem propriedades antimicrobianas, antioxidantes e anti parasitárias, incluindo atividade promissora contra *Leishmania* em estudos *in vitro* (BRUSTOLIN *et al*, 2022) e *in vivo* (dados não avaliados por pares). A busca por novas alternativas terapêuticas é necessária devido às limitações dos tratamentos atuais, visando maior eficácia e menor toxicidade. O cinamaldeído se apresenta como um candidato promissor, e sua associação com Glucantime® pode otimizar os resultados. O objetivo do estudo é avaliar se a combinação de cinamaldeído com Glucantime® em formas amastigotas de *L. amazonensis* pode potencializar a ação terapêutica e reduzir a dose necessária do fármaco de referência, minimizando efeitos adversos.

MATERIAIS E MÉTODOS

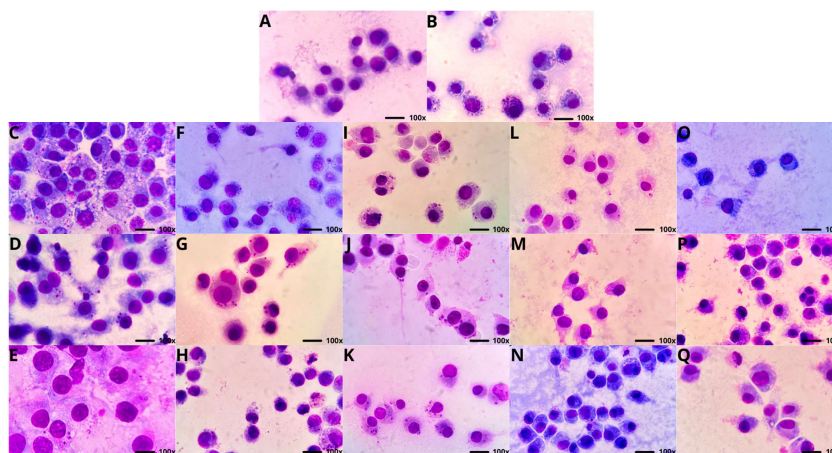
Macrófagos (5×10^5 células/poço) foram dispostos em placas com lamínulas estéreis, incubados, lavados para remoção de células não aderentes e infectados com *L. amazonensis* na proporção de 10 parasitos por macrófago. Após 4h, os parasitos não fagocitados foram removidos por meio de lavagem, e foram adicionadas diferentes concentrações da combinação dos compostos, bem como cada composto isoladamente. Tais concentrações foram baseadas na IC₅₀ destes compostos avaliada anteriormente, a IC₅₀ do cinamaldeído foi de 200 µM, enquanto a do Sb⁺ foi de 25 µg/mL. Macrófagos infectados e não tratados foram utilizados como controle positivo e macrófagos não infectados foram utilizados como controle negativo de infecção. Após 24h de incubação, as lamínulas foram coradas com coloração Panótica e analisadas em microscopia óptica. Foram contados 200 macrófagos para determinar o índice de infecção (percentual de macrófagos infectados $\times$ número de parasitos por célula). A concentração inibitória de 50% (IC₅₀) foi obtida por regressão logarítmica.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados mostram que, isoladamente, tanto o cinamaldeído ($2 \times IC_{50} = 0,37$; $IC_{50} = 1,08$; $IC_{50}/2 = 1,71$) quanto o Sb⁺ ($2 \times IC_{50} = 0,82$; $IC_{50} = 1,3$) reduziram o índice de infecção em relação ao controle positivo (1,92), exceto para a concentração de Sb⁺ $IC_{50}/2$, que apresentou valor semelhante ao controle (1,94). Na figura 01, também pode-se notar um menor número de amastigotas no interior dos macrófagos para os compostos isolados.

As combinações dos dois compostos apresentaram resultados ainda mais promissores, todas elas apresentaram resultados diminuídos de índice de infecção em relação ao controle positivo. O destaque foi para a associação de cinamaldeído $2 \times IC_{50}$ (400 µM) com Sb⁺ $IC_{50}/2$ de (12,5 µg/mL), que obteve índice de infecção de apenas 0,07, ou seja, 27 vezes menor que o controle positivo. De forma geral, todas as combinações superaram os resultados obtidos com os compostos isolados, nas diferentes concentrações, como pode ser observado na tabela 1.

Figura 1. Amastigotas de *L. Amazonensis* tratadas com diferentes concentrações de cinamaldeído e Antimonial Pentavalente (Sb^{+5}) combinados e isolados.



A = controle negativo de infecção (CN); B = controle positivo de infecção (CP); C = cinamaldeído $IC_{50}/2$; D = cinamaldeído IC_{50} ; E = cinamaldeído $2xIC_{50}$; F = $Sb^{+5} IC_{50}/2$; G = $Sb^{+5} IC_{50}$; H = $Sb^{+5} 2xIC_{50}$; I = cinamaldeído $IC_{50}/2 + Sb^{+5} IC_{50}/2$; J = cinamaldeído $IC_{50}/2 + Sb^{+5} IC_{50}$; K = cinamaldeído $IC_{50}/2 + Sb^{+5} 2xIC_{50}$; L = cinamaldeído $IC_{50} + Sb^{+5} IC_{50}/2$; M = cinamaldeído $IC_{50} + Sb^{+5} IC_{50}$; N = cinamaldeído $IC_{50} + Sb^{+5} 2xIC_{50}$; O = cinamaldeído $2xIC_{50} + Sb^{+5} IC_{50}/2$; P = cinamaldeído $2xIC_{50} + Sb^{+5} IC_{50}$; Q = cinamaldeído $2xIC_{50} + Sb^{+5} 2xIC_{50}$.

Tabela 1. Índice e percentual de infecção em diferentes concentrações de Cinamaldeído (Cina) e Antimonial Pentavalente (Sb^{+5}), isolados e em combinação.

Compostos	Concentrações	Índice de infecção	Percentual de infecção (%)
Controle positivo	-	1,92	67,25
Cinamaldeído	Cina $IC_{50}/2$	1,71	64,75
	Cina IC_{50}	1,08	51,75
	Cina $2xIC_{50}$	0,37	25,25
Sb^{+5}	$Sb^{+5} IC_{50}/2$	1,94	71,50
	$Sb^{+5} IC_{50}$	1,30	63,00
	$Sb^{+5} 2xIC_{50}$	0,82	39,50
Combinados	Cina $IC_{50}/2 + Sb^{+5} IC_{50}/2$	1,27	65,25
	Cina $IC_{50}/2 + Sb^{+5} IC_{50}$	0,71	44,00
	Cina $IC_{50}/2 + Sb^{+5} 2xIC_{50}$	0,93	55,75
	Cina $IC_{50} + Sb^{+5} IC_{50}/2$	0,52	34,25
	Cina $IC_{50} + Sb^{+5} IC_{50}$	0,39	31,75
	Cina $IC_{50} + Sb^{+5} 2xIC_{50}$	0,36	25,50
	Cina $2xIC_{50} + Sb^{+5} IC_{50}/2$	0,07	6,50
	Cina $2xIC_{50} + Sb^{+5} IC_{50}$	0,10	9,25
	Cina $2xIC_{50} + Sb^{+5} 2xIC_{50}$	0,32	15,50

Cina = Cinamaldeído; Sb⁺⁵ = Antimonial pentavalente. Os valores correspondem ao índice de infecção e ao percentual de infecção (%) obtidos para cada tratamento testado, em comparação ao controle positivo.

Portanto, observamos que o cinamaldeído reduziu a infecção de forma consistente isoladamente, com resultados melhores que o tratamento de referência, sendo que o Sb⁺⁵ na menor concentração avaliada (IC₅₀/2) não apresentou redução da infecção em relação ao controle positivo. Quando avaliamos as combinações destes compostos obtivemos resultados ainda mais promissores do que os encontrados com o cinamaldeído isoladamente. Esses resultados, de acordo com os mecanismos de ação citados por Bentley (2024), sugerem o sinergismo destes compostos, visto que a ação conjunta dos dois compostos potencializou o efeito antiparasitário, permitindo maior eficácia com menor dose de antimonial pentavalente.

CONCLUSÕES

Tais resultados corroboram com a hipótese inicial do estudo, de que a combinação destes compostos é mais efetiva que a utilização dos mesmos de forma isolada, visto que eles apresentam um sinergismo quando utilizados de forma conjunta. Novos estudos são necessários para avaliar o efeito sinérgico dessa combinação visando um tratamento para as leishmanioses com maior efetividade e menos efeitos colaterais.

AGRADECIMENTOS

A Universidade Estadual de Maringá e ao órgão de fomento do projeto e ao CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pelo apoio no desenvolvimento do projeto.

REFERÊNCIAS

BENTLEY, Darren J. Revisiting the Checkerboard to Inform Development of β -Lactam/ β -Lactamase Inhibitor Combinations. **Antibiotics**, [S. l.], v. 13, n. 4, p. 337, 2024. DOI: 10.3390/antibiotics13040337. Acesso em: 21 de set. 2025.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Manual de vigilância da leishmaniose tegumentar [recurso eletrônico]**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2017. 189 p.: il. Acesso em: 21 de set. 2025.

BRUSTOLIN, Aline Ávila et al. *In vitro* activity of cinnamaldehyde on *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. **Experimental Parasitology**, [S. l.], v. 236–237, p. 108244, maio-jun. 2022. DOI: 10.1016/j.exppara.2022.108244. Acesso em: 21 de set. 2025.

TORRES-GUERRERO, E.; QUINTANILLA-CEDILLO, M. R.; RUIZ-ESMENJAUD, J.; ARENAS, R. Leishmaniasis: a review. **F1000Research**, [S. l.], v. 6, p. 750, 2017. DOI: 10.12688/f1000research.11120.1. Acesso em: 21 de set. 2025.