



Universidade Federal do Maranhão
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde
Doutorado

**ATIVIDADE ANTI-*Leishmania* DA FORMULAÇÃO DO EXTRATO
HIDROETANÓLICO DE *Dysphania ambrosioides* (L.)
INCORPORADO EM MEMBRANAS DE QUITOSANA**

ARTHUR ANDRÉ CASTRO DA COSTA

SÃO LUÍS - MA
2025

ARTHUR ANDRÉ CASTRO DA COSTA

**ATIVIDADE ANTI-*Leishmania* DA FORMULAÇÃO DO EXTRATO
HIDROETANÓLICO DE *Dysphania ambrosioides* (L.)
INCORPORADO EM MEMBRANAS DE QUITOSANA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (PPGCS) da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), como requisito para obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde

Orientadora: Prof^a Dr^a Lucilene Amorim Silva

SÃO LUIS - MA

2025

FICHA CATALOGRÁFICA

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

Costa, Arthur André Castro da.

ATIVIDADE ANTI-Leishmania DA FORMULAÇÃO DE EXTRATO
HIDROETANÓLICO DE *Dysphania ambrosioides* L. INCORPORADO EM
MEMBRANAS QUITOSANA / Arthur André Castro da Costa. -
2025.

125 f.

Orientador(a): Lucilene Amorim Silva.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em
Ciências da Saúde/ccbs, Universidade Federal do Maranhão,
São Luís, 2025.

1. Leishmaniose Tegumentar. 2. Produto Natural. 3.
Sistema de Liberação Controlada. 4. Bioprospecção. 5.
Tratamento Tópico. I. Silva, Lucilene Amorim. II. Título.

ARTHUR ANDRÉ CASTRO DA COSTA

**ATIVIDADE ANTI-*Leishmania* DA FORMULAÇÃO DO EXTRATO
HIDROETANÓLICO DE *Dysphania ambrosioides* (L.)
INCORPORADO EM MEMBRANAS DE QUITOSANA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (PPGCS) da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), como requisito para obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde.

Aprovada em: 24/07/2025

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Éder Magalhães Silva Fialho

Prof. Dr. Jefferson Mesquita Brito

Profa. Dra. Maria do Socorro de Sousa Cartagenes

Profa. Dra. Mayara Cristina Pinto da Silva
(Memória)

DEDICATÓRIA

Dedico a Deus para Ele use meus dons em favor do próximo. Aos meus Pais que sempre foram o meu alicerce, um porto seguro e a Aline, com que vou dividir o resto de minha vida.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a DEUS, quem tenho por Pai e Amigo, e a Quem tudo devo. Sua presença me foi tangível e Seu auxílio foi essencial para as pequenas e grandes batalhas na vida acadêmica.

Quero agradecer de coração a meus pais: Neuzivania Santos Castro e Josué Araújo da Costa, que sempre me foram um porto seguro e estímulo na busca por uma vida melhor por meio da Educação. Também quero agradecer à minha namorada, amiga e cúmplice Aline Santana Figueredo, a quem detenho um carinho especial. Aline, dentre todos, você foi a pessoa que esteve mais próximo de mim, e quem esteve comigo nos meus melhores e piores dias. Meu muito obrigado, por sua ajuda neste trabalho e por todo seu amor e carinho.

Quero muito agradecer à professora dra. e querida orientadora Lucilene Amorim Silva, por ter me acolhido como seu aluno, e pela paciência de ter me ensinado tudo que sei sobre *Leishmania*. Meu sincero muito obrigado!!!

Também dedico meus agradecimentos a grande família LIF, com quem estou a 14 anos (LPI, LIAC e LIF), pela convivência e parceria diária, mas em especial aos amigos: Danielle Gomes, Luís Douglas, Jefferson Brito Louriane Gomes, Caroline Martins, Josivan Régis, Irla Licá, e à professora dra. e amiga Mayara Silva, que estiveram comigo desde o início e foram meus braços na hora do trabalho, mas também o abraço amigo na hora das dificuldades e do lazer. Pessoal sem vocês nada disso seria possível, então deixo aqui meus agradecimentos.

Um agradecimento ao professor dr. Andrés Trostchansky que aceitou me coorientar em uma linda passagem acadêmica no Uruguai, onde conheci pessoas incríveis e que me abriram os olhos para novas formas de fazer Ciência. Assim estendo meu agradecimento a todos do Centro de Investigaciones Biomédicas.

Agradeço ao LPQN representado pela Profa. Dra. Cláudia Quitino, e ao grupo Bionanos representado pela Profa. Dra. Ana Alcântara e Ma. Rebecca Araújo.

Gostaria de agradecer aos meus antigos orientadores: Prof dr. Wanderson Silva Pereira, que foi a pessoa que mostrou a pesquisa e responsável pelos primeiros ensinamentos, à Prof dra. Flávia Raquel Fernandes Nascimento que foi fundamental na minha evolução acadêmica e profissional, e à Prof dra. Rosane Nassar Meireles Guerra, a qual é uma inspiração pra mim. A vocês deixo o meu agradecimento.

EPÍGRAFE

Eu aprendi qual é o valor que eu sonho alcançar
Eu entendi que o caminho pedras terá
Eu vi em campo aberto se erguer construção
E foi com muitas pedras, e foi com muitas mãos

Eu vi o meu limite vir diante de mim
Eu enfrentei batalhas que eu não venci
Mas o troféu não é de quem não fracassou
Eu tive muitas quedas, mas não fiquei no chão

E ao olhar pra trás, tudo que passou
Venho agradecer quem comigo estava
Ergo minhas mãos pra reconhecer

E hoje eu sou quem eu sou
Pois Sua mão me acompanhava
Mas eu sei, não é o fim, é só o começo da jornada
Eu abro o meu coração pra minha nova história

Vejo vitórias se hoje eu olho para trás
E a minha frente eu creio que tem muito mais
Eu sei que minha jornada aqui só começou
E ao longo dessa estrada
Sozinho eu não estou [...]

Canção de Vocal Livre: “É só o começo”

RESUMO

As leishmanioses são um grupo de doenças infecciosas parasitárias causadas por protozoário do gênero *Leishmania* de incidência em países tropicais e subtropicais, sendo a Leishmaniose Tegumentar (LT) sua forma clínica mais comum. A principal terapêutica utilizada para os casos de LT é a prescrição dos antimoniais pentavalentes porém, estes estão associados a importantes problemáticas como: alta toxicidade, resistência aos medicamentos e recidiva. Contudo, alguns estudos apontam que a associação de produtos naturais com ação leishmanicida à sistemas de liberação controlada (SLC) são uma promissora terapêutica para LT. Este estudo avaliou o potencial terapêutico da formulação do extrato hidroetanólico de *Dysphania ambrosioides* (EHDA) incorporado à membrana de quitosana como alternativa para o tratamento da LT, analisando seu perfil químico, físico-químico e efeitos biológicos na atividade leishmanicida e viabilidade *in vitro* de células de mamíferos. O EHDA foi obtido a partir das folhas de *D. ambrosioides*, as quais foram secas, trituradas, percoladas, rotaevaporadas e liofilizadas. O EHDA foi incorporado em ácido acético 1% e quitosana 1% e secas em estufa. A caracterização química de polifenóis do EHDA e membranas foi determinada por HPLC e quantificação total de polifenóis (TPC) e flavonóides (TFC). A caracterização físico-química foi analisada por Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada em Fourier (FTIR), Difração de raios-X (DRX), Teste de solubilidade, Espectroscopia da região do UV-Visível, transmissão de vapores de água (TVA) e Microscopia eletrônica de varredura (MEV). Para os ensaios biológicos *in vitro*, a atividade antipromastigota (48h) e anti-amastigota (24h) e citotoxicidade em macrófagos (24h) foram determinadas pelo método de MTT. A atividade hemolítica (1h) foi determinada por espectrofotometro. A taxa de infecção de macrófagos por *L. amazonensis* (10 *Leishmania*/1 macrófago) foi determinada por contagem de amastigotas internalizadas. A quantificação de produção de espécies reativas de oxigênio do EHDA e membranas foi realizado por ensaio da atividade da NADPH oxidase em macrófagos por Amplex red. Foram identificados ácido cafeico, ácido gálico, miricetina, rutina, quercitina e kaempferol como compostos majoritários do EHDA. A cinética de liberação por TFC demonstrou que os flavonóides foram liberados em até 96h a partir da membrana. O EHDA incorporado em quitosana apresentou atividade leishmanicida contra as formas promastigotas e amastigotas de *Leishmania amazonensis*, e reduziu a taxa de infecção de forma dose-dependente, sem apresentar citotoxicidade para eritrócitos e macrófagos. Sugere-se que os devidos efeitos biológicos observados estejam associados a presença dos polifenóis e flavonóides quantificados após cinética de liberação do EHDA a partir da membrana. As análises físico-químicas das membranas demonstraram que as mesmas apresentaram superfície lisa, sem a presença de rachaduras e estruturas em camadas, com boa estabilidade química em diferentes pHs, alto fator de proteção à radiação UV e alta capacidade de transmissão de vapores de água demonstrando potencial utilização para tratamento de lesões ulcerativas leishmanióticas. Portanto a membrana do EHDA incorporado em quitosana apresenta ação leishmanicida e baixa toxicidade celular e satisfatória estrutura e propriedades físico-químicas.

Palavras – chave: Leishmaniose tegumentar. Produto Natural. Sistema de liberação controlada. Bioprospecção. Tratamento tópico.

ABSTRACT

Leishmaniasis is a group of parasitic infectious diseases caused by protozoa of the *Leishmania* genus, prevalent in tropical and subtropical countries, with Cutaneous Leishmaniasis (TL) being the most common clinical form. The main therapy for TL is the prescription of pentavalent antimonials, but these are associated with significant problems such as high toxicity, drug resistance, and relapse. However, some studies indicate that the combination of natural products with leishmanicidal action with controlled drug delivery systems (CDDS) is a promising therapy for TL. This study evaluated the therapeutic potential of the hydroethanolic extract of *Dysphania ambrosioides* (HEDA) incorporated into a chitosan membrane as an alternative for the treatment of TL, analyzing its chemical and physicochemical profile, as well as its biological effects on leishmanicidal activity and *in vitro* viability of mammalian cells. EHDA was obtained from the leaves of *D. ambrosioides*, which were dried, ground, percolated, rotary evaporated, and lyophilized. EHDA was incorporated into 1% acetic acid and 1% chitosan and dried in an oven. The chemical characterization of polyphenols in EHDA and the membranes was determined by HPLC and total polyphenol content (TPC) and total flavonoid content (TFC). Physicochemical characterization was analyzed by Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), X-ray Diffraction (XRD), Solubility Test, UV-Visible Region Spectroscopy, Water Vapor Transmission Rate (WVTR), and Scanning Electron Microscopy (SEM). For *in vitro* biological assays, antipromastigote (48h) and anti-amastigote (24h) activity and cytotoxicity in macrophages (24h) were determined by the MTT method. Hemolytic activity (1h) was determined by spectrophotometer. The infection rate of macrophages by *L. amazonensis* (10 *Leishmania*/1 macrophage) was determined by counting internalized amastigotes. Quantification of reactive oxygen species production by HEDA and membranes was performed by assaying NADPH oxidase activity in macrophages using Amplex red. Caffeic acid, gallic acid, myricetin, rutin, quercetin, and kaempferol were identified as the major compounds of HEDA. TFC release kinetics demonstrated that the flavonoids were released from the membrane within 96h. Chitosan-incorporated HEDA exhibited leishmanicidal activity against promastigotes and amastigotes of *Leishmania amazonensis* and reduced the infection rate in a dose-dependent manner, without showing cytotoxicity to erythrocytes and macrophages. It is suggested that the observed biological effects are associated with the presence of polyphenols and flavonoids quantified after HEDA release kinetics from the membrane. Physicochemical analyses of the membranes demonstrated smooth surfaces, free of cracks and layered structures, good chemical stability at different pHs, high UV protection, and high water vapor transmission capacity, demonstrating potential use in the treatment of leishmanial ulcerative lesions. Therefore, the chitosan-incorporated HEDA membrane exhibits leishmanial activity, low cellular toxicity, and satisfactory structure and physicochemical properties.

Keywords: *Leishmania*. Natural product. Drug delivery system. Bioprospecting. Topical treatment.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Morfologia da <i>Leishmania</i>	23
Figura 2. Ciclo de transmissão das Leishmanioses.....	25
Figura 3. Leishmaniose Tegumentar Americana - forma clínica: leishmaniose cutânea localizada.....	27
Figura 4. Leishmaniose Tegumentar Americana - forma clínica: leishmaniose cutânea disseminada.....	28
Figura 5. Leishmaniose Tegumentar Americana - forma clínica: leishmaniose mucosa ou mucocutânea.....	29
Figura 6. Resposta imune frente a infecção por <i>Leishmania</i> sp.....	30
Figura 7. Ilustração de espécime de <i>Dysphania ambrosioides</i> (L.) Mosyakin & Clement.....	37
Figura 8. Comparação das variações de concentração de fármacos administrados por diferentes métodos: liberação controlada (A) e terapia convencional (B).....	40
Figura 9. Estrutura química da quitosana (n: unidades monoméricas).....	41

CAPÍTULO 1

Figura 1. Identificação dos estudos através das bases de dados, segundo recomendação do PRISMA.....	63
--	----

CAPÍTULO 2

Figura 1. Produção de membranas de EHDA incorporadas em membranas de quitosana.....	94
Figura 2. Ensaio de transmissão de vapores de água.....	96
Figura 3: Fluxograma experimental do ensaio antipromastigota e anti-amastigota..	97
Figura 4. Fluxograma experimental do ensaio de citotoxicidade em RAW 264.7.....	98
Figura 5: Teor de Polifenólicos e Flavonóides totais do EHDA incorporado em membrana de Quitosana.....	101
Figura 6. Caracterização química do EHDA por HPLC/UV.....	102

Figura 7. Caracterização Físico-química da interação de EHDA e matriz polimérica de quitosana	103
Figura 8. Propriedades ópticas das membranas por EHDA incorporadas em quitosana na região do visível e UV.....	104
Figura 9. Ensaio de Permeabilidade de vapor de água em membrana de Quitosana e EHDA incorporado a Quitosana.....	105
Figura 10. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) de membranas de EHDA incorporado em membranas de quitosana.....	105
Figura 11. Atividade antipromastigota e anti-amastigota de EHDA incorporado em quitosana sob <i>L. amazonensis</i>	106
Figura 12. Ensaio de hemólise de EHDA incorporado em quitosana	107
Figura 13. Ensaio de citotoxicidade de membrana de Quitosana e EHDA incorporado em membrana de Quitosana sob células RAW 264.7.....	107
Figura 14. Taxa de infecção em macrófagos RAW 264.7 infectados por <i>L. amazonensis</i> sob tratamento com EHDA incorporado em Quitosana.....	108
Figura 15. Produção de citocina IL-6 em sobrenadantes de macrófagos RAW 264.7 infectados por <i>L. amazonensis</i> tratados com EHDA incorporado em membrana de Quitosana.....	108
Figura 16. Ensaio de quantificação da atividade de NADPH do EHDA e EHDA incorporado em membranas de quitosana em macrófagos J774A.....	109

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1. Resumo descritivo da estratégia PICO.....	61
Tabela 2. Resumo de características dos estudos <i>in vitro</i> selecionados para a revisão.....	66
Tabela 3. Resumo de características dos estudos <i>in vivo</i> selecionados para a revisão	68
Tabela 4: Resumo dos métodos de análise e resultados dos estudos <i>in vitro</i>	72
Tabela 5: Resumo dos métodos de análise e resultados dos estudos <i>in vivo</i>	76
Tabela 6: Avaliação do risco de viés de estudos <i>in vivo</i> por ferramenta SYRCLE.....	81

CAPÍTULO 2

Tabela 1: Quantificação total de polifenóis (TPC) e total de flavonóides (TFC) do extrato hidroetanólico de <i>Dysphania ambrosioides</i> (EHDA).....	101
Tabela 2. Percentual de solubilidade do EHDA incorporado em membranas de Quitosana.....	104
Tabela 3. Quantificação de capacidade de transmissão de vapor de água (g/m ² .dia)	105

LISTA DE ABREVIATURAS

ANFO – Anfotericina b

APC – Células apresentadoras de antígenos (*Antigen-presenting cell*)

BOD - Demanda bioquímica de oxigênio

CC50 - Concentração citotóxica para 50% de células

IC50 – Concentração inibitória para 50% dos microrganismos

Da.Q – Membrana de EHDA incorporado em quitosana

DATASUS – Departamento de informática do SUS

DC- Célula dendrítica

DPI - Cloreto de difenilenoiodônio

DMSO – Dimetilsulfóxido

DNA – Ácido desoxirribonucleico

DRX – Difração de Raio - X

EHDA- Extrato hidroetanólico de *Dysphania ambrosioides*

EROs - Espécies reativas de oxigênio

FTIR - Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada em Fourier

GAE - Gramas equivalentes de ácido gálico por cada 100g de extrato seco

GQE - Gramas equivalentes de quercetina por cada 100g de extrato seco

GM-CSF - Fator Estimulador das Colônias de Granulócitos e Macrófagos

HRP - enzima peroxidase de rábano

IgG – Imunoglobulina G

IL - Interleucina

IFN-gama – Interferon-gama

ISO - International Standard Organization

LC – Leishmaniose Cutânea

LCD – Leishmaniose Cutânea Difusa

LCL – Leishmaniose Cutânea Localizada

LDPK - Leishmaniose dermal pós-calazar

LMC – Leishmaniose Mucocutânea

LPS - Lipolissacarídeo

LTA – Leishmaniose Tegumentar Americana

LT – Leishmaniose Tegumentar

LV – Leishmaniose Visceral

MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura

MTT - (3- (4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-brometo de difeniltetrazólio

MØ – Macrófago

NETs - Armadilhas extracelulares de neutrófilos

NK – Célula Natural Killer

NO – Óxido Nítrico

OPAS – Organização Pan-Americana de Saúde

OMS – Organização Mundial da Saúde

PAMPs - Padrões moleculares associados a patógenos

PBS – Tampão Fosfato Salina

PICO - Paciente, intervenção, comparação e desfecho

PMA - Forbol 12-miristato 13-acetato

PNV - Produtos naturais vegetais.

PRRs - Receptores de reconhecimento de padrões

QTS - Quitosana

RENISUS - Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde

ROS – Espécies reativas de oxigênio

Sb3+ - Antimonial trivalente

Sb5+ - Antimonial pentavalente

SI – Índice de Seletividade

SLC – Sistema de liberação controlada

T CD4 – Linfócito T auxiliar

TFC - Quantificação total de flavonóides.

TGF- β - Fator de transformação do crescimento beta

Th1 – Resposta T auxiliar 1

Th2 - Resposta T auxiliar 2

TLR - Receptores *toll-like*

TNF – Fator de necrose tumoral

TPC - Quantificação total de polifenóis

TVA – Transmissão de vapores de água

UVB – Ultravioleta B

VP - Vacúolo parasitóforo

WHO – World Health Organization (Organização Mundial da Saúde)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	Erro! Indicador não definido.
2. REFERENCIAL TEÓRICO	Erro! Indicador não definido.
2.1 Epidemiologia das Leishmanioses	Erro! Indicador não definido.
2.2 Histórico das Leishmanioses	Erro! Indicador não definido.
2.3 Gênero <i>Leishmania</i> , vetores e ciclo biológico	Erro! Indicador não definido.
2.4 As leishmanioses	Erro! Indicador não definido.
2.4.1 Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA)	Erro! Indicador não definido.
2.5 Resposta imune à Tegumentar Americana (LTA)...	Erro! Indicador não definido.
2.6 Terapêutica das leishmanioses	Erro! Indicador não definido.
2.7 Bioprospecção de produtos naturais na terapêutica das leishmanioses	Erro! Indicador não definido.
2.8 <i>Dysphania ambrosioides</i> (L.) Mosyakin & Clement	Erro! Indicador não definido.
2.9 Sistemas poliméricos de liberação controlada de fármacos	Erro! Indicador não definido.
2.10 Quitosana	Erro! Indicador não definido.
REFERÊNCIAS	Erro! Indicador não definido.
OBJETIVOS	Erro! Indicador não definido.
3.1 Objetivo geral	Erro! Indicador não definido.
3.2 Objetivos específicos	Erro! Indicador não definido.
APRESENTAÇÃO DOS CAPÍTULOS DA TESE	Erro! Indicador não definido.
CAPÍTULO 1	Erro! Indicador não definido.
RESUMO	Erro! Indicador não definido.
ABSTRACT	Erro! Indicador não definido.
1. INTRODUÇÃO	Erro! Indicador não definido.
2. METODOLOGIA	Erro! Indicador não definido.
2.1 Estratégia de busca em bases	Erro! Indicador não definido.
2.2 Critérios de seleção dos estudos	Erro! Indicador não definido.
2.3 Extração dos dados	Erro! Indicador não definido.

2.4 Avaliação do Risco de Viés	Erro! Indicador não definido.
3. RESULTADOS.....	Erro! Indicador não definido.
3.1 Características gerais dos estudos incluídos.....	Erro! Indicador não definido.
3.2 Métodos de análise e resultados dos estudos <i>in vitro</i>	Erro! Indicador não definido.
3.3 Métodos de análise e resultados dos estudos <i>in vivo</i>	Erro! Indicador não definido.
3.4 Avaliação do risco de viés	Erro! Indicador não definido.
4. DISCUSSÃO.....	Erro! Indicador não definido.
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	Erro! Indicador não definido.
REFERÊNCIAS	Erro! Indicador não definido.
CAPÍTULO 2.....	Erro! Indicador não definido.
1. INTRODUÇÃO.....	Erro! Indicador não definido.
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	Erro! Indicador não definido.
2.1. Identificação Botânica e Preparação de Extrato Hidroetanólico de <i>Dysphania ambrosioides</i> (EHDA)	Erro! Indicador não definido.
2.2. Produção do EHDA Incorporado em Membranas de Quitosana	Erro! Indicador não definido.
2.3. Caracterização Química do EHDA por Chromatografia Líquida de Alta Performance com Espectroscopia Ultravioleta (HPLC/UV)	Erro! Indicador não definido.
2.4. Quantificação Total de Polifenóis (TPC) e Quantificação Total de Flavonóides (TFC) do EHDA e Membranas	Erro! Indicador não definido.
2.5. Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada em Fourier (FTIR)	Erro! Indicador não definido.
2.6. Difração de Raios-X (DRX)	Erro! Indicador não definido.
2.7. Teste de Solubilidade.....	Erro! Indicador não definido.
2.8. Espectroscopia da região do UV-Visível	Erro! Indicador não definido.
2.9. Ensaio de transmissão de vapores de água (TVA)	Erro! Indicador não definido.
2.10. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	Erro! Indicador não definido.
2.11. Cultura de Promastigotas e Amastigotas de <i>Leishmania (Leishmania) amazonensis</i>	Erro! Indicador não definido.
2.12. Atividade Leishmanicida.....	Erro! Indicador não definido.

2.13. Método MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol2-il)-2,5-difeniltetrazólio)	Erro! Indicador não definido.
2.14. Ensaio de hemólise com eritrócitos de carneiro ..	Erro! Indicador não definido.
2.15. Ensaio de Citotoxicidade de Macrófagos.....	Erro! Indicador não definido.
2.16 Ensaio de Infecção.....	Erro! Indicador não definido.
2.17 Produção de Citocinas	Erro! Indicador não definido.
2.18. Atividade de NADPH oxidase	Erro! Indicador não definido.
2.19. Análise Estatística.....	Erro! Indicador não definido.
3. Resultados	Erro! Indicador não definido.
3.1. Caracterização Química.....	Erro! Indicador não definido.
3.1.1. Quantificação Total de Polifenóis (TPC) e Total de Flavonóides (TFC) do EHDA.....	Erro! Indicador não definido.
3.1.2. Quantificação Total de Polifenóis (TPC) e Quantificação Total de Flavonóides (TFC) das Membranas	Erro! Indicador não definido.
3.1.3. Caracterização Química do EHDA e EHDA incorporado em Membranas de Quitosana por HPLC/UV	Erro! Indicador não definido.
3.2. Caracterização Físico-química	Erro! Indicador não definido.
3.2.1. Espectros de absorbância das membranas por FTIR	Erro! Indicador não definido.
3.2.2. Fases cristalinas das membranas por DRX.....	Erro! Indicador não definido.
3.2.3. Teste de Solubilidade	Erro! Indicador não definido.
3.2.4. Espectros de absorção na região UV-Vis das membranas	Erro! Indicador não definido.
3.2.5. Membrana de EHDA incorporada em quitosana não altera a capacidade de transmissão de vapor.....	Erro! Indicador não definido.
3.2.6. Microscopia eletrônica de Varredura (MEV) do EHDA incorporado em membranas de quitosana.....	Erro! Indicador não definido.
3.3. Ensaio <i>in vitro</i>	Erro! Indicador não definido.
3.3.1. Atividade Antipromastigota e Anti-amastigota	Erro! Indicador não definido.
3.3.2. Hemólise em Eritrócitos de Carneiro	Erro! Indicador não definido.
3.3.3. Citotoxicidade em Macrófagos (RAW 264.7)	Erro! Indicador não definido.
3.3.4. Ensaio de Infecção.....	Erro! Indicador não definido.
3.3.5. Produção de citocinas	Erro! Indicador não definido.

3.3.6 Atividade da NADPH Oxidase de EHDA e Membranas em Macrófagos (J774A.1)**Erro! Indicador não definido.**

4. DISCUSSÃO**Erro! Indicador não definido.**

5. CONCLUSÕES**Erro! Indicador não definido.**

REFERÊNCIAS**Erro! Indicador não definido.**

CONCLUSÃO GERAL**Erro! Indicador não definido.**

ANEXOS: Artigos publicados no período de vigência do Doutorado**Erro! Indicador não definido.**