

Lapachol – química, farmacologia e métodos de dosagem*

Lapachol – chemistry, pharmacology and assay methods

Said Gonçalves da Cruz Fonseca¹, Rossana Maria Carvalho Braga² & Davi Pereira de Santana³

RESUMO – Após estudos com plantas superiores em busca de substâncias com ação antimicrobiana, E. Paterno⁵⁵ em 1882 isolou o Lapachol que veio a ser reconhecido também como um agente antimalárico, esquistossomicida, antiviral, anti-inflamatório e anticâncer. Originalmente isolado de espécies da família Bignoniaceae, o Lapachol também pode ser encontrado em outras famílias, sempre ao lado de outras naftoquinonas que também apresentam atividades farmacológicas. Em vista do grande interesse ainda demonstrado por esta substância, quer na forma isolada quer na forma de um extrato bruto da espécie que a contenha, realizamos a presente revisão como uma ferramenta para ser utilizada como ponto de partida em futuras experimentações.

PALAVRAS-CHAVE – Bignoniaceae, farmacologia, Lapachol, métodos de dosagem, *Tabebuia avellanedae* Lor..

SUMMARY – After studies with superior plants in search of substances with antimicrobial action, E. Paterno⁵⁵ in 1882 has been isolated the Lapachol that came to be also recognized as an antimalaric, schistosomicide, antiviral, anti-inflammatory and anticancer agent. Originally isolated from species of the Bignoniaceae family, Lapachol can also be found in other families, always beside other naftoquinonas that also present pharmacological activities. In view of the great interest still demonstrated by this substance, either in the isolated form or in the form of a rude extract of the species that contains her, we accomplished to present revision as a tool to be used as starting point in future experimentations.

KEYWORDS – Bignoniaceae, pharmacology, Lapachol, assay methods, *Tabebuia avellanedae* Lor..

Ocorrência natural

O Lapachol é uma hidroxinaftoquinona substituída, 2-hidróxi-3-(3-metil-2-butenil)-1,4-naftalenodiona (Fig.1) descoberto e estudado desde o século passado. Foi isolado primeiramente do lenho da árvore argentina, “lapacho”, *Tabebuia avellanedae* Lor. (Bignoniaceae), por E. Paterno⁵⁵. Os estudos químicos foram desenvolvidos inicialmente por S.C. Hooker em 1892 e 1896^{33,34}.

Em 1956, Gonçalves de Lima e coll.⁴³, constataram no cerne do pau d’arco roxo, *Tabebuia* sp., a existência de um composto de coloração amarela com atividade antimicrobiana, principalmente para o gênero *Brucella*, e que no decurso dos estudos químicos chegaram à conclusão de que era Lapachol. A presença do Lapachol foi constatada posteriormente em várias outras espécies^{11,19,35,64,72} e diferentes famílias como demonstrado na Tab. I.

Além do Lapachol, foram isolados na espécie *Tabebuia avellanedae* Lor. ex Griseb (Bignoniaceae) e em outras espécies, seis naftoquinonas e nove

antraquinonas. Do primeiro grupo são citados as menaquinonas-1, e derivados éter metílico do Lapachol, α -lapachona e β -lapachona, desoxilapachol e desidro- α -lapachona (xiloidona). No grupo das antraquinonas são referidas a 2-metil-antraquinona (tectoquinona), 2-aldeído-antraquinona, 2-carboxi-antraquinona, 2-hidro-3-metil-antraquinona, 1-hidro-xiantraquinona, 1-metoxiantraquinona, 2-hidroxi-metil-antraquinona, 2-acetoximetil-antraquinona e tabebuína. Contém ainda lapachenol, quercetina, ácido orto- e para-hidroxibenzoico. A presença de filoquinona (vitamina K) foi registrada apenas nas folhas desta planta. As substâncias mais estudadas nesta espécie são: o Lapachol, os dois isômeros, α -lapachona e β -lapachona, e a xiloidona (desidro- α -lapachona), todos biologicamente ativos⁸ (Fig. 2).

Obtenção

O Lapachol pode ser obtido por vários métodos de extração sempre se baseando na sua solubilidade em solvente orgânico e do seu sal em meio aquoso alcalino, gerando soluções amarelas e vermelhas,

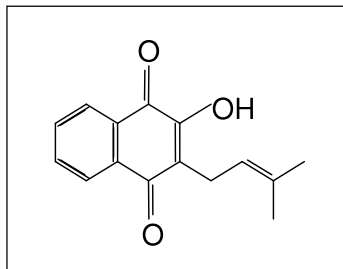


FIG. 1 - Estrutura química do Lapachol

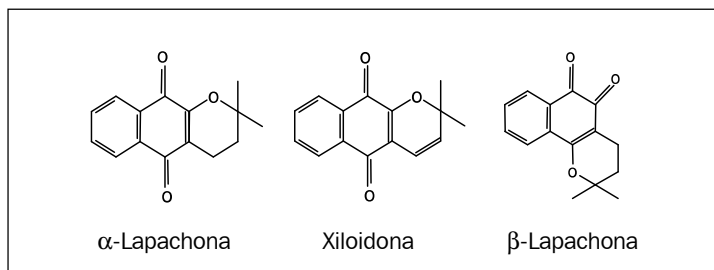


FIG. 2 - Estruturas químicas do α -Lapachona, Xiloidona e do β -Lapachona

Recebido em 11/2/2003

* NUDFAC – Núcleo de Desenvolvimento Farmacêutico e Cosmético – UFPE

¹Professor da Univ. Fed. do Ceará – UFC; ²Aluna de doutorado da Univ. S. Paulo – USP; ³Professor da Univ. Fed. de Pernambuco – UFPE.

TABELA I
Distribuição da ocorrência de Lapachol por famílias e espécies

Família	Espécie
Bignoniaceae	<i>Tabebuia flavescens</i> Benth - & Hook. F. ex. Griseb. <i>T. guayacan</i> Hemsl. <i>T. avellanadae</i> Lor. ex Griseb. <i>T. serratifolia</i> (Vahl.) Nichols <i>T. rosa</i> <i>T. pentaphylla</i> (Linn) Hemsl. <i>Paratecoma peroba</i> (Record) Kuhl <i>Tecoma araliaceae</i> DC <i>Stereospermum suaveolens</i> DC. <i>Stereospermum Kunthianum</i> <i>Millingtonia hortensis</i> Linn <i>Stereospermum tetragonum</i> DC. <i>Catalpa longissima</i> <i>Macfadyena unguis-cati</i> <i>Tabebuia bata</i> (E. Mey) Sandw
Verbenaceae	<i>Tectona grandis</i> L. fil <i>Avicennia tomentosa</i> Jacq <i>Avicenia officinalis</i>
Proteaceae	<i>Conospermum teretifolium</i> R. Br.
Leguminosae	<i>Diphysa robinoides</i> Bent
Sapotaceae	<i>Bassia latifolia</i>
Outras famílias	<i>Sterocarpus salignus</i> , <i>Haplophragma adenophyllum</i> , <i>Kigelia pinnata</i> , <i>Markhamia stipulata</i> wall, <i>Phyllarthon conorense</i> <i>Radermachera xylocarpa</i> <i>Avicennia alba</i>

respectivamente. Os métodos de extração desenvolvidos por Gonçalves et al³⁹, 1962, consistem na extração do Lapachol da serragem do cerne de Pau d'arco roxo (*Tabebuia* sp) com benzeno, ou com acetona.

A forma de extração do Lapachol mais empregada foi descrita por Paterno⁵⁵. Este método, propicia a obtenção de 80g de Lapachol puro cristalizado para cada 1Kg de serragem do cerne do 'Pau d'arco'.

O teor de Lapachol encontrado no caso da *Tabebuia avellanadae* Lor. ex Griseb (Bignoniaceae) foi de 3 a 4% no seu cerne, chegando, em algumas espécies a 7% de rendimento⁸.

Os principais derivados do Lapachol podem ser obtidos das seguintes formas, segundo Lima et al³⁹: A α -lapachona e a β -lapachona pode ser obtida a partir do Lapachol. A xiloidona pode ser obtida quimicamente pelo método que consiste em refluxar o Lapachol, e por um segundo método desenvolvido por Ivan L. d'Albuquerque e col, que toma por base os trabalhos de S.C. Hooker, Gonçalves de Lima et al e H.N. Grant, V. Prelog e R. P. Sneed, que consiste em refluxar o Lapachol em anidrido acético e piridina, seguindo-se de uma hidrólise e oxidação lenta³⁹.

D'Albuquerque¹², mostrou que o Lapachol também pode ser transformado em α -lapachona, β -lapachona e xiloidona por via física (calor). Mostrou ainda em seu trabalho que a xiloidona aquecida era transformada em α -lapachona e β -lapachona.

Hartwell e Aboutt publicaram a existência de cerca de 68 análogos do Lapachol¹². Pinto et al⁵⁷, obtiveram mais de 22 derivados de β -lapachona, nor- β -lapachona e lapachol.

Fieser²³ propôs uma rota para a obtenção sintética do Lapachol em 1927, seguido por Hooker, em 1936 e Pettit e Houghton, em 1971⁵³.

Propriedades físico-químicas

O Lapachol tem a forma de cristais prismáticos,

ou folhas amarelas, de peso molecular 242,26, sendo sua fórmula química C₁₅H₁₄O₃, com ponto de fusão 139,5 – 140,2°C. A absorção máxima no Ultravioleta ocorre em 251,5, 278 e 331nm (Log ϵ 4,38, 4,28 e 3,43 respectivamente⁵³. É bastante solúvel em acetona, etanol, metanol, clorofórmio, benzeno e ácido acético; solúvel em éter etílico; insolúvel em água a frio, sendo ligeiramente solúvel em água em ebulição, promovendo uma coloração alaranjada. A solubilidade em água é marcadamente influenciada pelo pH, variando de 1,5 μ g/mL a pH 4,0 para 5mg/mL a pH 10,0, demonstrando comportamento típico de uma substância ionizável fracamente ácida⁴⁶.

A substância dissolve-se prontamente em soluções alcalinas; na presença de hidróxido de sódio, forma um sal sódico que confere às soluções aquosas uma coloração vermelha brilhante. Esta forma é extremamente ativa como corante⁵.

Nos estudos de Lui, C. Y. et al⁴⁶, foi determinada a estabilidade das soluções de Lapachol utilizando diversos solventes, no escuro sob refrigeração, a temperatura ambiente (25°C) sem proteção e com proteção da luz. As soluções que apresentaram instabilidade foram às soluções aquosas não tamponadas e soluções não aquosas quando expostas à luz. O coeficiente de partição octanol/água é descrito como sendo 2,69 (log P)⁴⁶.

Formulação

Block et al⁵ observaram que doses orais de até 50mg/Kg/dia, não alcançaram o nível plasmático 30-35 μ g/mL, considerado crítico para atividade sobre o tumor. Considerando este problema Lui, C. Y. et al⁴⁶, desenvolveu formulações emulsionadas com Lapachol a um pH 6,0 e 8,5 para uso parenteral, havendo quebra das emulsões em poucas horas, encontrando-se o Lapachol distribuído em ambas às fases da emulsão.

Em contrapartida, vários estudos mostraram ser positivos a atividade anticancerígena do Lapachol. Atualmente no Brasil, o Lapachol é comercializado sob forma de cápsulas gelatinosas indicadas para pacientes portadores de várias neoplasias malignas, como, carcinoma epidermóide do colo uterino, carcinoma epidermóide do assoalho da boca, adenocarcinoma do aparelho digestivo, além de auxiliar na quimioterapia⁷¹.

Como o Lapachol tem apresentado atividade anti-inflamatória, Santos E. R. et al⁶⁹, 1991 realizaram ensaios *in vitro* de preparações dérmicas contendo Lapachol, tendo como objetivo concluir sobre a provável eficácia de penetração do referido princípio ativo. Foram testadas duas formulações. Estas formulações possuíam a capacidade para atravessar as membranas utilizadas no ensaio.

Sester⁷¹, a partir dos resultados positivos *in vitro* das formulações de Lapachol desenvolvidas por Santos et al⁶⁹, propôs pesquisar a passagem percutânea do Lapachol, otimizando uma das formulações, variando a concentração de Lapachol, em diferentes valores de pH e Carbopol, com e sem incorporação de Tween 80. Através dos métodos *in vitro* e *ex vivo* empregados neste estudo, pode-se demonstrar a boa difusibilidade do Lapachol tóxico a pH 8,0 a partir de géis de Carbopol, principalmente do tipo 934P e com 0,5% do princípio ativo.

Lopes et al, em 1988, durante o X Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, mostraram diversas

formulações contra bursite, tendinite, otite e sinusite, usando cápsulas gelatinosas para as duas primeiras e gotas otológicas e gotas nasais para as últimas, respectivamente, obtendo cura em mais de 90% dos casos estudados.

Franco, E. P. M. *et al*²⁴, em 1986, avaliaram formulações de tinturas capilares à base de Lapachol as quais atuam segundo um processo de difusão no fio de cabelo, fixando-se pela penetração no tecido, o que lhes confere durabilidade e estabilidade à cor obtida. As cores avaliadas foram Preta, Vermelha, Castanha e Loura. Observou ainda que o Lapachol absorve energia no espectro U.V. na faixa de 200-350nm, considerada como sendo a faixa eritemática do espectro eletromagnético. Esta absorção dá ao Lapachol características de filtro solar criando um efeito protetor para a fibra do cabelo. Além disso, a penetração do Lapachol no tecido capilar, por entre as células da cutículas, age como um plastificante da córnea, conferindo flexibilidade, volume e brilho ao cabelo, aliado a resistência à lavagem. Devido às características estruturais da molécula do Lapachol, que apresenta maior componente apolar, funciona melhor como plastificante queratínico.

Ação terapêutica

Atividade antiinflamatória

Em 1970, uma ação antiinflamatória e cicatrizante do extrato hidroalcoólico do líber do Pau d'arco, utilizando tampões vaginais foi observada por Martha Wanick *et al*⁷⁵, empregando 20 pacientes portadoras de cervites e cervico-vaginites crônicas. Os resultados observados foram satisfatórios, com regressão de estado patológico entre 19 e 29 dias de tratamento, dependendo da gravidade das manifestações clínicas. No caso de pacientes com flora tipo 3, ocorreu a regressão total das manifestações patológicas quando as pacientes foram tratadas com duchas vaginais dentro de 35 a 40 dias.

Posteriormente, Lopes *et al*, em 1988, durante o X Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, realizaram ensaios preliminares em pacientes portadores de bursites em fase aguda, tendinite, além de empregá-lo sob a forma de gotas, em pacientes portadores de sinusites agudas e crônicas, e de otites agudas e crônicas. Em todos os casos os pacientes apresentaram respostas clínicas satisfatória, com erradicação da doença em torno de 92-100% dos casos.

Almeida *et al*¹, também avaliaram a atividade antiinflamatória do Lapachol em ratos, apresentando significativa ação antiinflamatória do Lapachol na dose de 150mg/Kg, por via oral, comparada com a fenilbutazona. Os valores em porcentagem de inibição da atividade antiinflamatória do Lapachol e fenilbutazona para o edema de pata foram 78% e 55%, e para o abscesso da região dorsal foram 55,71 e 48,71 respectivamente².

Em 1992, Grazziotin²⁹, isolou da *T. chysotricha* três naftoquinonas: Lapachol, dehidrolapachona e 5-hidroxi-2(1'-hidroxi-etil)nafto[2,3-b]furano-4,9diona, porém apenas o extrato etanólico e o Lapachol foram submetidos ao ensaio biológico para determinar a analgesia. A análise estatística do tempo de resposta ao estímulo ao calor em ratos tratados intraperitonealmente com extrato etanólico de *T. chysotrichae* e Lapachol, mostrou significativa diferen-

ça para o grupo controle. Sester⁷¹ pôde constatar que formulações tópicas do Lapachol mantêm suas propriedades antiinflamatórias e analgésicas, após testes clássicos de indução de edema em ratos e analgesia.

Atividade antimicrobiana

Desde os primeiros trabalhos de Oswaldo Gonçalves de Lima^{8,39,40,41,42,43} e Ivan Leônico D'Albuquerque¹³, que a atividade antibiótica do Lapachol é estudada, sendo contudo verificada uma predominância de atividade contra certos microrganismo Gram-positivos e ácido resistentes, porém uma baixa atuação contra Gram-negativos, exceto contra o gênero *Brucella*. Verificou-se também que à medida que se eleva o grau de pureza do Lapachol, diminui-se progressivamente a atividade antimicrobiana do Lapachol, o que pode ser explicado pelo fato de que outras naftoquinonas extraídas junto com o Lapachol também possuem atividade antimicrobiana.

O Lapachol não é ativo contra *S. pyogenes*, *Sh. paradysenteriae*, *E. coli*, *C. pseudotropicalis*, *Pr. Vulgaris*, *Pr. Morgani*, *Gib. fugikuvoi*, *Pen. vilacium*, *Gest. candidum*, *Asp. niger*, *Fus. Lycoperis*¹³.

Guiraud P. *et al*³¹ propôs comparar a atividade bactericida e fungicida do Lapachol e β -lapachona e determinar a sua concentração inibitória mínima. Os resultados confirmaram que a β -lapachona tem uma maior eficiência antimicrobiana do que o Lapachol, como reportado primeiramente por Gonçalves de Lima *et al*⁴², 1962. Os fungos foram consideravelmente mais sensíveis do que bactérias, particularmente para a β -lapachona. No total tanto o Lapachol quanto a β -lapachona foram mais ativos que o cetoconazol.

Foi observado uma discrepância nos resultados obtidos nos diferentes trabalhos de Gonçalves e Guiraud P. *et al*³¹. Principalmente contra o gênero *Candida* e *Criptococcus*. Para o Lapachol e β -lapachona. Estas variações nos resultados foram atribuídas a diferenças em protocolo experimental³¹. Recentemente, deoxilapachol, uma 1,4-naftoquinona foi reportado ser citotóxica e fungicida.

Atividade antiulcerogênica

Goel²⁷ mostrou que na úlcera induzida pelo stress, a administração oral de Lapachol 2x5,0mg/Kg, durante 3 dias, promoveu uma redução de 56%. Neste mesmo trabalho, foi determinado que o Lapachol não afetou nenhum parâmetro secretório exceto no conteúdo de proteína do suco gástrico em ratos, o qual foi reduzido significativamente. Entretanto, o pré-tratamento com Lapachol reverteu significativamente as mudanças induzidas na atividade péptica, proteína e ácido siálico do conteúdo do suco gástrico. Estes resultados sugerem que o efeito anti-ulcerogênico do Lapachol pode ser devido a diminuição do conteúdo de proteína no suco gástrico e que é 5 vezes mais potente do que o extrato etanólico a 70%. Não se constatou proteção quando a úlcera foi induzida pela histamina em cobaias²⁷.

Atividade anticancerígena

Os primeiros estudos antineoplásicos para o Lapachol desenvolvidos por Hartwell em 1967 (comunicação pessoal ao prof. Gonçalves de Lima) mostraram uma alta atividade antineoplásica do Lapa-

TABELA II
Ação do Lapachol e seus derivados sobre a sarcoma de Yoshida e tumor de Walker 256

Substância	Dose (mg/Kg)	Sarcoma de Yoshida	Tumor de Walker 256	Referência
Lapachol	100	82%	50%	65
	100	76,7%	40,26%	38
	150	—	51,00%	38
	160	71,1%	—	38
	200	82,70%	—	38
	250	59,68%	—	38
	300	65,49%	77,30%	38
α -Lapachona	100	—	—	65
β -Lapachona	7	16,20%	33,54%	65
Xiloidona	200 (i.p.)	—	44,00%	65
	400 (i.p.)	51,74%	—	65
	500 (oral)	—	32,00%	65
Extrato aquoso do cortex do Pau d'arco	150	85,00%	80,00%	65

chol sobre o Sarcoma de Yoshida (86% de inibição)⁶⁶ (Tab. II).

Rao⁶³, confirmou a atividade antitumoral do Lapachol sobre o carcinossarcoma de Walker 256.

Utilizando a via subcutânea e a via intravenosa, os resultados foram desanimadores devido ao limite de toxicidade da forma física (suspensão). Em dose única ou em dias alternados o Lapachol foi menos efetivo que a administração diária, sugerindo que o mesmo é rapidamente metabolizado e excretado⁶³.

Rao⁶³ mostrou ainda que a administração de 2 doses diárias por via i.p., i.m., s.c., e oral resulta em uma dose efetiva mínima da ordem de 90-110mg/Kg. E concluiu que o Lapachol tem aumento da atividade sobre o carcinossarcoma de Walker 256 por via oral administrado 2 vezes apresentando baixa toxicidade.

Posteriormente Gonçalves⁴¹ comparou a atividade do Lapachol e Lawsonia contra o sarcoma 180, e constatou que o Lapachol mostrou-se ineficaz.

O Lapachol é ativo contra o Linfossarcoma de Murphy Sturm, e é inativo em neoplasias de ratos para o adenossarcoma 755, carcinoma pulmonar de Lewis, Leucemia Linfocítica P388 e leucemia L-1210.

Hartwell e Aboutt descreveu que existem 68 análogos sintéticos do Lapachol e apenas a 2-(3,7-dimetil-2,6-octadieno)-3-hidroxi-1,4-naftoquinona foi ativo contra o carcinossarcoma de Walker 256⁶³. O Lapachol inicialmente ativo em tumores sólidos passou sob a forma do derivado acetoglicosídico a ser ativo em tumor líquido, leucemia P388 em camundongos.

Sieber⁷³ publicou que o sal sódico do Lapachol foi ativo contra Leucemia L1210, devido ao aumento do nível sanguíneo do sal que foi alcançado em comparação com o Lapachol.

O Lapachol e seu derivado 2-(3-metil-2-butenil)-3-(tretaacetil- β -D-glicopiranosiloxi)-1,4-naftoquinona mostraram também atividade contra o carcinoma ascítico de Ehrlich na dose de 150mg/Kg, inibiram o crescimento tumoral em 0-12% e 95,4-99,6%, respectivamente⁵².

A busca por ensaios que verifiquem de forma

rápida e precisa a ação citotóxica de substâncias puras ou extratos vegetais conduziu os pesquisadores aos ensaios *in vitro* usando linhagens de células tumorais, como KB, P388 e L1210. O uso de células KB para a seleção de substâncias ou extratos com ação anticancerígena, no entanto, revelou que o Lapachol é inativo, enquanto foram considerados ativos a β -lapachona, e outras 1,4-naftoquinonas, como 2-O-(tetraacetil-glicopiranosil)-1,4-naftoquinona e 2-hidroxi-3-(3,4-metilenodioxifenilamino)-metileno-1,4-naftoquinona, o que demonstra as limitações do método²².

Estudos clínicos apontam que o Lapachol é bem tolerado mas sem atividade antitumoral, provavelmente pelo fato de não se ter alcançado concentração sanguínea efetiva. Sabe-se que a concentração plasmática do Lapachol necessária para a atividade contra carcinossarcoma de Walker 256 é de 30 a 35 μ g/mL, mas que nunca foi alcançada. Em doses maiores surgem os efeitos tóxicos principais do Lapachol: náuseas, vômito, aumento reversível do tempo de protrombina. O estudo clínico do Lapachol não foi terminado não só devido a surgimento de efeito anticoagulante, mas também por não se ter alcançado o nível plasmático $\geq 30\mu$ g/mL que aparentemente não pode ser atingido sem produzir efeito tóxico^{5,66,73}.

No trabalho de Dinnen¹⁶, foram realizadas determinações com substâncias sabidamente antioncogênicas, com substâncias não anti-oncogênica e com agentes indutores. Verificou-se que os agentes indutores químicos precisam de uma concentração elevada (>10 μ g/mL, chegando até a 1mg/mL) para produzirem diferenciação, ao passo que as antioncogênicas atuam em concentrações mais baixas, estabelecendo-se assim a delimitação entre os efeitos para a interpretação dos resultados obtidos nos estudos com outras substâncias. A aplicação do ensaio para o Pau d'arco e Lapachol demonstrou a atividade indutora de diferenciação em concentração de aproximadamente 5,5 μ g/mL e 0,10 μ g/mL, respectivamente, que foi inibida pela Vitamina K₁. A atividade citotóxica do Lapachol só foi evidenciada na concentração de 10 μ g/mL, demonstrando que a concentração de Lapachol necessária para induzir a diferenciação é consideravelmente menor que a que produz citotoxicidade.

Atividade antiviral

Na avaliação da atividade antivirótica do Lapachol *in vitro* verificou-se que esta substância é ativa contra vírus RNA atuando tanto sobre vírus envelopados quanto sobre vírus sem esta estrutura (P₁S – pólio tipo 1), em concentrações de 5 a 10 μ g/mL. Apresentou ainda pequena atividade sobre HSV (Herpes simplex I) e Ad5 (Adeno tipo 5), mas nenhuma atividade sobre CoxB4 (Coxsackie B4). Em trabalho posterior demonstrou-se que nem o Lapachol nem diversos dos seus derivados apresentaram atividade antiviral *in vitro* sobre Poliovírus tipo 1, Ecovírus 19 e Coxsackie B tipo 4. Contra o Echovírus 19 têm atividade apenas os derivados 1,2-naftoquinônicos e o intermediário de Hoocker³⁸.

Outras atividades

Num estudo realizado *in vitro* sobre a atividade tripanosomicida do Lapachol e outras naftoquinonas, usando *Tripanosoma cruzi* e *Crithidia fascicula*

lata, foi observado que o Lapachol tem pouca atividade e os mais ativos são o β -lapachona e alil- β -lapachona^{45,74}. Entretanto, Santos *et al.*, determinou que o sal de potássio do lapachol mostrou forte atividade contra os moluscos⁴⁷.

Foi demonstrada uma estreita relação entre a indução de produção de espécies reativas de oxigênio (superóxido e peróxido) e a letalidade *in vitro* de naftoquinonas sobre o *T. cruzi* nas formas amastigota e epimastigota^{17,54} e tripomastigota¹⁰. As mais ativas foram a 1,4-naftoquinona e a β -lapachona, com valores de CMI de 0,3 e 0,8 μ g/mL, respectivamente⁷. Isto é facilitado pelo fato de que o *T. cruzi* não dispõe de mecanismos protetores eficientes, como catalase e peroxidase²⁸.

Os derivados 1,2 e 1,4 naftoquinonas bloqueiam a penetração de cercárias através da pele da cauda de rato previamente tratada com uma solução orgânica das amostras. Dentre as 1,4-naftoquinonas, o Lapachol, assim como seus derivados O-acil e O-alquil, impediram completamente a penetração de cercárias durante 24 horas. Uma mistura de Lapachol a 1% em polímero carboset (acrilamidas carboxiladas) protege entre 37,9 e 100% durante 8 dias após aplicação única. Doses orais de Lapachol também atuam como quimioprotetores contra infecção por cercárias de *S. mansoni*. A suspensão do Lapachol em óleo mineral administrada por via oral significativamente limita a infecção mas foi muito tóxica em níveis de proteção moderados (700mg/Kg diariamente). A suspensão em meio de Freund foi ligeiramente menos tóxica e mais efetiva. O sal sódico do Lapachol, solúvel na água, também fornece uma proteção contra a infecção quando ingerido juntamente com a água^{3,57}.

Num ensaio *in vitro* com 12 substâncias naftoquinônicas em busca de ação antimalárica sobre *Plasmodium falciparum* em estágio eritrocitário verificou-se que o Lapachol apresentou atividade inibitória sobre o crescimento do parasita, sendo parcialmente ativos⁹.

Efeitos colaterais e toxicidade

A toxicidade aguda (DL₅₀) em ratos albinos via intraperitoneal do Lapachol foi de 1600mg/Kg, da α -lapachona 350mg/Kg, da β -lapachona 80mg/Kg e da xiloidona é de 600mg/Kg como determinado por Santana *et al.*⁶⁷ (1968). Morrison⁴⁹ (1970) encontrou valores de DL₅₀, por via oral, maiores de 2400mg/Kg em ratos, 621mg/Kg em camundongos, sendo que os machos foram mais susceptíveis à ação do Lapachol exibindo DL₅₀ de 487mg/Kg enquanto que nas fêmeas o valor foi de 792mg/Kg. Apesar de sua baixa toxicidade o Lapachol apresenta alguns efeitos como a anorexia, náusea e mais raramente vômitos; o que pode ser facilmente controlado com antieméticos. Uma prolongação reversível do tempo de protrombina é observada a doses elevadas⁴⁹.

A toxicidade crônica em ratos Sprague Dowley, usando via oral, não produziu alterações nos animais que receberam Lapachol na dose de 150mg/Kg diariamente, durante 30 dias. Os que receberam dose diária de 500mg/Kg de peso corporal morreram na 10ª dose. Estudos patológicos não revelaram alterações de grande importância nos diversos órgãos destes animais, nem modificaram os níveis tensionais nem a mecânica respiratória dos ratos anestesiados com nembutal. Diferente de alguns agentes antitumorais, Lapachol exibe atividade al-

tamente significativa com pouco efeito relativo sobre o peso da população. Apesar da β -lapachona possuir atividades antineoplásica e antibiótica, superiores às do Lapachol, bem como atividade antiviral, este isômero apresenta-se 20 vezes mais tóxico que o Lapachol⁴⁹.

Oleson *et al.*⁵¹, mostrou que cachorros que receberam doses diárias de 0,25; 0,5; 1,0 e 2,0mg/Kg não apresentou efeito letal. Em estudos com macacos cynomolgus, um recebendo diariamente 0,25 e 0,5g de Lapachol/Kg e 1 macaco recebendo 1,0g de Lapachol/Kg, a morte ocorreu depois de 6 dias de tratamento com 0,5g de Lapachol/Kg e depois de 5 dias com 1,0g de Lapachol/Kg. O macaco que recebeu 0,25g de Lapachol/Kg, apresentou infrequente emese, anorexia, palidez das mucosas, anemia moderada e reversível, reticulocitoses, proteinúria, bilirrubinemia e descoloração da urina depois de 1-2 semanas de tratamento. Conclui, portanto, que a dose de 0,25g de Lapachol/Kg administrada diariamente por via oral durante 28 dias é considerada a máxima dose tolerada em macacos, e para cachorros 2,0mg/Kg^{49,51}.

Ensaio de sensibilização cutânea de cobaias com diferentes naftoquinonas demonstraram que o Lapachol só apresenta efeito sensibilizante quando aplicado sobre a pele de animal pré-sensibilizado com Desoxilapachol, atuando então apenas como sensibilizante secundário.⁷⁰ Recentemente, um diagnóstico feito pelo *Finnish Institute of Occupational Health*, no período de 1976-1999, notificou 4 casos de reações alérgicas por Lapachol e deoxilapachol²¹.

Um ensaio de teratogenicidade da droga realizada em ratos prenhes indicou que a administração oral de 100mg/Kg de Lapachol mostrou uma grande incidência de reabsorção do ovo por ação bastocistotóxica-antizigótica e uma atividade abortiva, levando a malformação. A ação do Lapachol ocorre no início do período da divisão do ovo, assim como durante o período de implantação através de mecanismos ainda desconhecidos¹. Gerra *et al.*, em 1999, confirmou a embriofetividade do Lapachol em ratas grávidas, mostrando que as mães não foram afetadas, porém ocorreu 99,2% de mortes fetais³⁰.

A administração de Lapachol por via parenteral a ratos adultos, concomitantemente a um carcinógeno químico (20-metilcolantreno) administrado por via oral, demonstrou que o Lapachol se comporta como um potente promotor oncogênico. Além disso, o Lapachol se comportou como um produto hepato e nefrotóxico, produzindo notáveis alterações histopatológicas nestes órgãos. Não se observou significativo efeito sobre os pulmões⁶⁵.

A administração parenteral de vitamina K a pacientes que receberam Lapachol por via oral faz com que o efeito de prolongamento do tempo de protrombina seja eliminado, mesmo com dose única da vitamina e o tratamento permanecendo durante um total de semanas⁴⁹.

Farmacocinética

O Lapachol é rapidamente absorvido através do trato gastrointestinal após administração oral em ratos com tumor de Walker 256. Distribui-se por todos os tecidos, exceto o cerebral e células sanguíneas. Uma quantidade significativa aparece no tumor, mas 6 horas após a administração, boa parte da droga desaparece deste tecido. Em estudos não publicados, indicou-se que a absorção intestinal do

Lapachol no homem é consideravelmente menor que a determinada em ratos. É rapidamente metabolizado e parcialmente transformado em β -lapachona. Quando administrado intravenosamente (IV) em camundongos a uma dose de 40mg/Kg, detecta-se um tempo de meia-vida de 33 minutos da substância; em cães seriam 75 minutos. Sua excreção é prioritariamente pelas fezes. Em cães, 55% da dose aplicada (20mg/Kg) aparece nas fezes e 12,2% na urina. Em ratos, 63% da dose administrada por via intravenosa (50mg/Kg) aparece nas fezes e 30% na urina⁵⁰.

Block J.B. et al⁵, determinou em um paciente com tumor de Walker, os níveis plasmáticos de Lapachol administrado na dose de 0,5g a cada 6 horas durante 5 dias e em 2 pacientes na dose de 2g. Em ambos os casos a concentração plasmática do Lapachol não atingiu a 30 μ g/mL, considerado crítico para a atividade antitumoral. O estudo clínico do Lapachol não foi terminado devido ao seu efeito anticoagulante, e também por não se ter alcançado o nível plasmático³ 30mg/mL de Lapachol.

Glen, V. C et al²⁵ determinou em ratos o volume de distribuição $V_c=1,229L/Kg$ e o clearance $Cl=0,292L/Kg.h$ para a 3-hidroxi- β -lapachona e para a β -lapachona $V_c=1,232L/Kg$ e $Cl=0,225L/Kg.h$, apresentando farmacocinética biexponencial.

Pinheiro, R. M.⁵⁶, constatou que o Lapachol quando administrado por via oral em pacientes com câncer na dose de 4,0mg/Kg de peso corpóreo, a cada 6 horas durante 7 dias é metabolizado parcialmente em xiloidona ocorrendo sua excreção através da urina, bem como de Lapachol não metabolizado. Neste mesmo trabalho foi reportada ainda a evidência de α - e β -Lapachona na urina dos pacientes. Os metabólitos principais do Lapachol são o Lomatiol, e o Metabólito A^{50,72}.

Farmacodinâmica

Aproveitando-se de modelos propostos em 1961 e 1962, respectivamente por Smith & Lester e Redfearn & Whitaker, Santana e colaboradores propuseram que o Lapachol tem mecanismo de ação semelhante a outras quinonas (benzoquinonas) como inibidor da oxidação e fosforilação mitocondriais e inibidor da oxidase succínica^{37,67}.

Buscando associar atividades complementares de agentes anticâncer, estudou-se a utilização concomitante da Showdomicina e do Lapachol, verificou-se induzir uma mudança no volume mitocondrial energizada com ATP³².

Rao et al⁶² concluiu, após realizadas diversas substituições na hidroxila, na cadeia lateral e adições no anel benzênico, que a estrutura molecular do Lapachol tem uma especificidade única para a atividade biológica. O dicloro derivado, obtido pela substituição dos grupamentos metila da cadeia lateral, produziu maiores níveis plasmáticos e maior atividade sobre o tumor de Walker 256. Objetivando o estudo apropriado da relação entre a estrutura química do Lapachol e a sua atividade farmacológica, alguns autores observaram a substituição dos grupamentos metil por Cloro ou Bromo, resulta em compostos com muito boa atividade anticancerígena⁴⁸.

Ao contrário de outras drogas anticâncer do tipo benzantraquinona, que estimulam a peroxidação lipídica dependente de NADPH:citocromo P-450 redutase microsomal, o Lapachol a inibe por um mecanismo potente e desconhecido⁴⁷.

O Lapachol é um potente e reversível inibidor da Vitamina K epóxido redutase e Vitamina K quinona redutase, sendo que a sua forma oxidada é o verdadeiro inibidor da primeira enzima, resultando daí o observado efeito hipoprotrombinêmico do Lapachol e 2-hidroxi-naftoquinonas relacionadas^{59,60,61}.

O Lapachol e outras 1,4-naftoquinonas são inibidores da enzima dihidro-orotato desidrogenase, e que dá início a via biossintética das pirimidinas. Devido a presença extracelular de nucleosídeos pirimidínicos *in vivo*, a depleção sinérgica de nucleotídeos pirimidínicos pode ser insuficiente para uma ação quimioterápica curativa sobre hepatomas³⁶.

A enzima glicoxalase I é competitivamente inibida pelo Lapachol, alguns flavonóides e outras substâncias. Vários inibidores desta enzima são citotóxicos para as células L.1210 e KB em cultura de tecidos, possuindo atividade anticâncer¹⁸.

As enzimas succiniloxidase e NADH-oxidase não foram inibidas pelo Lapachol mesmo em concentrações de até 330mM⁵⁸.

Boothman et al⁶ em 1989 e Dubin et al²⁰ em 1990 verificaram, entre outros efeitos, compostos estruturalmente relacionados, como α -lapachona, Lapachol e dicloro-alil-lawsona, não ativam a topoisomerase I e não produzem radiosensibilização; inibe a peroxidação lipídica microsomal dependente do NADPH, mas não dependente de hidroperóxido ou dependente de ascorbato; previne a destruição do citocromo P-450 dependente de NADPH mas não a induzida por hidroperóxido; inibe as reações catalizadas pelo citocromo P-450 dependente de NADPH mas não dependentes de hidroperóxido; gera radicais superóxido e estimulam a oxidação microsomal via NADPH.

A observação de que a Vitamina K₁ inibe a atividade indutora de diferenciação produzida pelo Lapachol. Relatos recentes têm fornecido um possível entendimento para o papel do Lapachol como agente antitumor indutor de diferenciação. Tem sido observado que a Vitamina K é necessária na ativação do gene específico de supressão do crescimento (Gas6), que é o ligante para o receptor da Ax1 tirosino-quinase, também denominada Ark ou ufo. Este é um gene transformante que foi isolado das células de leucemia mielóide humana, e é conhecido por estar superexpresso no câncer de cólon metastático. O Lapachol, como um antagonista da Vitamina K, deve visar todas as reações Vitamina K-dependentes, incluindo a interação Gas6-Ax1 e então bloquear a transdução dos sinais que estimulam a produção em tumores onde o oncogene Ax1 é expresso. O Lapachol pode ser um agente anticâncer oncogene-específico¹⁶.

Métodos de doseamento

Os métodos empregados para o doseamento do Lapachol e seus derivados em vários tipos de amostras, como extratos vegetais, substância pura e suas soluções, plasma, urina, etc., encontram-se resumidos na Tab. III.

A cromatografia por camada delgada desenvolvida por Sthal E. pode ser empregada como método de identificação do Lapachol, xiloidona, β -lapachona e α -lapachona⁵⁶. O uso da espectrometria UV⁵³ para a avaliação da estabilidade das preparações contendo Lapachol, tendo-se mostrado adequado apenas como indicador da degradação, mas inadequado para sua quantificação.

TABELA III
Métodos de dosagem disponíveis para determinação de Lapachol e seus derivados.

Métodos	Compostos medidos	Sensibilidade	Referências
HPLC	Lapachol 3-hydroxydehydroiso- α -lapachona 3-hydroxy-6-methoxydehydroiso- α -lapachona dehydro- α -lapachona	— — —	Den <i>et al</i> ¹⁵ (1987)
HPLC	Lapachol β -Lapachona α -Lapachona dehydro- α -lapachona	100ng/mL 15ng/mL 15ng/mL 250ng/mL	Awang <i>et al</i> ⁴ (1986)
HPLC	β -Lapachona α -Lapachona dehydro- α -lapachona	5ng/mL 10ng/mL 3ng/mL	Awang <i>et al</i> ⁴ (1986)
HPLC	β -Lapachona 3-hydroxy- β -lapachona	15ng/mL —	Glen <i>et al</i> ²⁶ (1997)
Fluorimetria	Lapachol	66ng/mL	Damme, J.G.V. ¹⁴ (1996)
Espectrofotometro U.V.	Lapachol (λ 251,5 , 278 e 331nm)	—	Merck index ³³ (1996)
Microbiológico	Lapachol Xiloidona	—	Santana <i>et al</i> ⁶⁷ (1968)

CONCLUSÃO

A descoberta e estudo do Lapachol nos fins do século passado, representou um dos episódios mais importantes da história da fitoquímica. O Lapachol possui várias atividades terapêuticas como antimicrobiana, antiulcerogênica e antiinflamatória. Outras atividades foram testadas, porém o extrato bruto e os derivados do Lapachol apresentaram mais uma vez atividade maior que o Lapachol puro. Estudos mais detalhados da atividade anticâncer para alguns tumores sólidos e líquidos o Lapachol puro não mostrou atividade efetiva, porém o seu extrato bruto e os seus derivados isolados contidos nos extratos apresentaram. Levantou-se a hipótese que o Lapachol não mostrava atividade por não alcançar a concentração sanguínea efetiva. Estudos farmacodinâmicos recentes apontaram que o Lapachol puro pode ser um agente anticancer oncogene-específico. Com isso reacende a possibilidade do uso do Lapachol como agente anticâncer. Esperamos que este trabalho sirva de ponto de partida estimulante para futuros estudos experimentais.

REFERÊNCIAS

- Almeida, E.R. de; Mello, A.C. de; Santana, C.F. de; Silva Filho, A.A. da; Santos, E.R. dos. The action of 2-hydroxy-3-(3-methyl-2-butenyl)-1,4-naphthoquinone (Lapachol) in pregnant rats. *Revista Portuguesa de Farmácia*, 38, Nº 3, 21-23, 1988.
- Almeida, E.R.; Silva Filho, A.A.; Santos, E.R.; Lopes, C.A.C. Antiinflammatory action of Lapachol. *Journal of Ethnopharmacology*, 29:239-241, 1990.
- Austin, F.G. Schistosoma mansoni chemoprophylaxis with dietary Lapachol. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 23, Nº 3, 412-419, 1974.
- Awang, D.V.C.; Kindack, D.; Dawson, B.A. Tandem high-performance liquid chromatography methods for resolution of Lapachol and related naphthoquinones. *Journal of Chromatography*, 368, Nº 2, 439-443, 1986.
- Block, J.B., Serpick, A.A., Miller, W., Wiernik, P.H. Early clinical studies with Lapachol (NSC-11905). *Cancer Chemther. Report part 2*, 4, nº 4, 27-28, 1974.
- Boothman, D.A.; Trask, D.K.; Pardee, A.B. Inhibition of potentially lethal DNA damage repair in human tumor cells by β -Lapachone, an activator of topoisomerase I. *Cancer Research*, 49, Nº 3, 605-612, 1989.
- Boveris, A.; Stoppani, A.O.M.; Docampo, R.; Cruz, F.S. Superoxide anion production and trypanocidal action of naphthoquinones on *Trypanosoma cruzi*. *Comp. Biochemical Physiology*, 61C: 327-329, 1978.
- Burnett, A.R.; Thomson, R.H. Naturally occurring quinones. Part. X. The quinoid constituents of *Tabebuia avellanedae* (Bignoniaceae). *Journal of Chemical Society*, 2100-2104, 1967.

- Carvalho, L.H.; Rocha, E.M.M.; Raslan, D.S.; Oliveira, A.B.; Krettli, A.U. In vitro activity of natural and synthetic naphthoquinones against erythrocytic stages of *Plasmodium falciparum*. *Brazilian Journal of Medicinal Biological Research*, 21: 485-487, 1988.
- Chiari, E.; Oliveira, A.B. de; Raslan, D.S.; Mesquita, A.A.L.; Tavares, K.G. Screening in vitro of natural products against blood forms of *Trypanosoma cruzi*. *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 85: 372-374, 1991.
- Colman de Saizarbitoria T, Anderson JE, Alfonso D, McLaughlin JL. Bioactive furonaphthoquinones from *Tabebuia barbata* (Bignoniaceae). *Acta Cient Venez*; 48(1):42-6, 1997.
- D'Albuquerque, I.L. Termorreação da 2-hidroxi-3-(3-metil-2-butenil)-1,4-naftoquinona. *Revista do Instituto de Antibióticos*, 8, Nº 1/2, 73-88, 1968.
- D'Albuquerque, I.L., Maciel, M. C. N., Schuler, A. R. P., Araújo, M. DO C. M., Maciel, G. M., Cavalcanti, M. da S. B., Martins, D. G. & Lacerda,

A. L. Preparações e primeiras observações sobre as propriedades antibióticas e antineoplásicas das naftoquinonas homólogos inferiores na série da 2-hidroxi-3-(3-metil-2-butenil)-1,4-naftoquinona (Lapachol). *Revista do instituto de Antibióticos*, Recife, 12 N. (1/2), 1972.

- Damme, J.G.V. Neve, R.E.DE. Fluorescence assay of hydroxynaphthoquinones. *J. Pharm. Sci.* 68, Nº 1, 16-19, 1979.
- Den, T.G. and Lee, S.L. Stationary phase XV. High-performance liquid chromatographic behavior of quinones on saffrole stationary phase. *J. of Chromatography*, 408: 323-328, 1987.
- Dinnen, R.D.; Ebisuzaki, K. The search for novel anticancer agents: a differentiation-based assay and analysis of a folklore product. *Anticancer Research*, 17: 1027-1034, 1997.
- Docampo, R.; Souza, W. de; Cruz, F.S.; Roitman, I.; Cover, B.; Gutteridge, W.E. Ultrastructural alterations and peroxide formation induced by naphthoquinones in different stages of *Trypanosoma cruzi*. *Parasitology Research*, 57, Nº 3, 189-198, 1978.
- Douglas, K.T., Gohel, D.I., Navdi, I.N., Quilter, A.J., Seddon, A.P. Partial transition-state inhibitors of glyoxalase I from human erythrocytes, yeast and rat liver. *Biochimica and Biophysica Acta*, 829:109-118, 1985.
- Duarte DS, Dolabela MF, Salas CE, Raslan DS, Oliveiras AB, Nenninger A, Wiedemann B, Wagner H, Lombardi J, Lopes MT. Chemical characterization and biological activity of *Macfadyna unguis-cati* (Bignoniaceae). *J Pharm Pharmacol*, mar;52(3):347-52, 2000.
- Dubin, M.; Villamil, S.H.F.; Stoppani, A.O.M. Inhibition of microsomal lipid peroxidation and cytochrome P-450-catalyzed reactions by β -Lapachone and related naphthoquinones. *Biochemical Pharmacology*, 39, Nº 7, 1151-1160, 1990.
- Estlander, T., Jolanki, R., Alanko, K., Kanerva, L. Occupational Allergic contact dermatitis caused by wood dusts. *Contact Dermatitis*, apr; 44(4):213-7, 2001.
- Fávaro, O.C.N.; Oliveira, M.M.; Rossini, M.A.A.; Kamakura, C.R.; Pinto, A.V.; Pinto, M. do C.F.R. Seleção por meio de células KB de substâncias e extratos potencialmente ativos em quimioterapia do câncer. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 62, Nº 3, 217-224, 1990.
- Fieser, L.F. The constitution and properties of Lapachol, lomatil and other hydroxynaphthoquinone derivatives. *J. Chem. Soc.*, 49:857-64, 1937.
- Franco, E.P. da M., Gouvêa, M.C.B.L.F., Barreto, D.W. Potencialidades da utilização de Lapachol em cosméticos. Parte III: avaliação do desempenho de tinturas capilares à base de Lapachol. *Aerosol & Cosméticos*, 8, Nº48 supl.4, 06-13, 1986.
- Glen, V.L., Hutson, P.R., Boothman, D.A., Church, D.R. and Wilding, G. Plasma pharmacokinetics and tissue distribution of β -lapachone and 3-hydroxy- β -lapachone in nude mice. *ASHP Midyear Clinical Meeting* 31: fff-1, 1996.
- Glen, V.L.; Hutson, P.P.; Kehrl, N.J.; Boothman, D.A.; Wilding, G. Quantitation of β -Lapachone and 3-hydroxy- β -Lapachone in human plasma samples by reversed-phase high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B – Biomedical Sciences and Applications*, 692, Nº 1, 181-186, 1997.
- Goel, R.K.; Pathak, N.K.R.; Biswas, M.; Pandey, V.B.; Sanyal, A.K. Effect of Lapachol, a naphthoquinone isolated from *Tectona grandis*, on experimental peptic ulcer and gastric secretion. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 39: 138-140, 1987.
- Goiman, S.G.; Frasch, A.C.C.; Stoppani, A.O.M. Inducción de alteraciones en el DNA del *Trypanosoma cruzi* por agentes tripanocidas. *Revista Argentina de Microbiología*, 16, Nº 2, 75-86, 1984.

29. Grazziotin, J.D.; Schapoval, E.E.S.; Chaves, C.G.; Gleye, J. Henriques, A.T. Phytochemical and analgesic investigation of *Tabebuia chrysotricha*. Journal of Ethnopharmacology, 36: 249-251, 1992.
30. Guerra, M.O., Mazoni, A.S.B., Brandão, M.A.F. and Peters, V.M. Toxicology of Lapachol in rats: embryolethality. Rev. Brasil. Biol., 61 (1): 171-174, 2001.
31. Guiraud, P.; Steiman, R.; Campos-Takaki, G.-M.; Seigle-Murandi, F.; Buochberg, M.S. de. Comparison of antibacterial and antifungal activities of Lapachol and β -Lapachone. Planta Medica, 60: 373-374, 1994.
32. Hadler, H.I.; Moreau, T.L. The induction of ATP energized mitochondrial volume changes by the combination of the two antitumor agents Showdomyacin and Lapachol. The Journal of Antibiotics, 22, N^o 11, 513-520, 1969.
33. Hooker, S. C. The Constitution of Lapachic Acid (Lapachol) and Derivatives. J.Chem.Soc.61:611-650, 1892.
34. Hooker, S. C. The Constitution of Lapachol and its Derivatives. The Structure of the Amylene Chain. J.Chem.Soc. 69:1355-1381, 1896.
35. Ito C, Katsuno S, Kondo Y, Tan HT, Furukawa H. Chemical constituents of *Avicennia alba*. Isolation and structural elucidation of new naphthoquinones and their analogues. Chem Pharm Bull (Tokyo) mar;48(3):339-43, 2000.
36. Keppler, D.; Fauler, J. GasseR, T.; Holstege, A.; Leube, K; Schulz-Holstege, C.; Weckbecker, G. Uridylate-trapping sugar analogs in combination with inhibitors of uridylate synthesis de novo and 5-fluorouridine. Advanced Enzyme Regulation, 23: 61-79, 1985.
37. Kumagai Y, Nakajima H, Midorikawa, K., Homma-Takeda, S. Shimojo, N. Inhibition of nitric oxide formation by neuronal nitric oxide synthase by quinones: nitric oxide synthase as a quinone reductase. Chem. Res. Toxicol. Jun; 11(6):608-13, 1998.
38. Lagrota, M.H. do C.; Wigg, M.D.; Aguiar, A.N.S.; Pinto, A.V.; Pinto, M. do C.F.R. Antiviral activity of naphthoquinones. I. Lapachol derivatives against enteroviruses. Revista Latino-Americana de Microbiologia, 29: 15-20, 1987.
39. Lima, O.G. de; D'Albuquerque, I.L.; Lima, C.G. de; Maia, M.H.D. Substâncias antimicrobianas de plantas superiores. Comunicação XX. Atividade antimicrobiana de alguns derivados do Lapachol em comparação com a xiloidona, nova ortonaftoquinona natural isolada de extratos do cerne do "Pau d'arco" rôxo, *Tabebuia avellanedae* Lor. Ex Griseb. Revista do Instituto de Antibióticos, 4, N^o 1/2, 3-17, 1962.
40. Lima, O.G. de; Maciel, G.M.; Oliveira, L.L. de; Lacerda, A.L.; Moreira, L.C.; Martins, D.G. Substâncias antimicrobianas de plantas superiores. Comunicação XXXVII. Atividade antimicrobiana e antineoplásica de Juglona (5-hidroxi-1,4-naftoquinona), Lapachol (2-hidroxi-3-(3-metil-2-butenil)-1,4-naftoquinona) e Plumbagina (2-metil-5-hidroxi-1,4-naftoquinona) e Lawsona (2-hidroxi-1,4-naftoquinona). Revista do Instituto de Antibióticos. 12. N^o 1/2, 3-12, 1972.
41. Lima, O.G., Coêlho, J. S. DE B., D'Albuquerque, I. L., Mello, J. F. DE, Martins, D. G., Lacerda, A. L., Suza, M. A. de M.E. Substâncias antimicrobianas de plantas superiores. Comunicação XXXV. Atividade antimicrobiana e antitumoral de Lawsona (2-hidroxi-1,4-naftoquinona) em comparação com o Lapachol (2-hidroxi-3-(3-metil-2-butenil)-1,4-naftoquinona). Revista do Instituto de Antibióticos, 11 N^o 1, 21-26, 1971.
42. Lima, O.G.; D'Albuquerque, I. L., Borba, A.P., Mello, J.F. Substâncias antimicrobianas de plantas superiores. Comunicação XXV. Obtenção de Xiloidona (Desidrolapachona) por transformação de Lapachol em presença de piridina, nova orto-naftoquinona natural isolada de extratos do cerne do "pau d'arco" rôxo, *Tabebuia avellanedae* Lor. ex Griseb. Revista do Instituto de Antibióticos, 6, N^o 1/2, 23-34, 1962.
43. Lima, O.G.; D'Albuquerque, I. L., Gonçalves de Lima, C., Machado, M. P. Primeiras Observações sobre a Ação Antimicrobiana do Lapachol. - Anais da Sociedade de Biologia de Pernambuco 14, N^o 1/2, 129-135, 1956.
44. Linardi, M. da C.F.; Oliveira, M.M de; Sampaio, M.R.P. A Lapachol derivative active against mouse lymphocytic leukemia P-388. Journal of Medicinal Chemistry, 18, N^o 11, 1159-1161, 1976.
45. Lopes, J.N.; Cruz, F.S.; Docampo, R; Vasconcelos, M.E.; Sampaio, M.C.R.; Pinto, A.V.; Gilbert, B. In vitro and in vivo evaluation of the toxicity of 1,4-naphthoquinone and 1,2-naphthoquinone derivatives against *Trypanosoma cruzi*. Annals of Tropical Medicine and Parasitology, 72, N^o 6, 523-531, 1978.
46. Lui, C.Y.; Ayeni, A.A.; Gyllenhaal, C.; Groves, M.J. Some formulation properties of Lapachol, a potential oncolytic agent of natural origin. Drug Development and Industrial Pharmacy, 11, N^o 9/10, 1763-1779, 1985.
47. Mimnaugh, E.G.; Trush, M.A.; Ginsburg, E.; Gram, T.E. Differential effects of anthracycline drugs on rat heart and liver microsomal reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-dependent lipid peroxidation. 42, N^o 9, 3574-358, 1982.
48. Moore, H.W.; Czerniak, R. Naturally occurring quinones as potential bio-reductive alkylating agents. Medicinal Research Reviews, 1, N^o 3, 249-280, 1981.
49. Morrison, R.K.; Brown, D.E.; Oleson, J.J.; Cooney, D.A. Oral toxicology studies with Lapachol. Toxicology and Applied Pharmacology, 17: 1-11, 1970.
50. Nayak, P.K., Molin, S., Carleton, F.J., Morrison, R. K. Absorption. Tissue distribution and excretion of lapachol in animals. Proceedings of Federation of American Societies for Experimental Biology, 27(1):1774, 1968.
51. Oleson, R.K., Morrison, D.E., Brown, E.K., Timmens, AND Tassini, R.A. Lapachol toxicol. toxicologic and pharmacologic studies with lapachol. Chem. Abst. 68: no.7, 28403M, 1968.
52. Oliveira, M.M. de; Linardi, M.C.F.; Sampaio, M.R.P. Effects of quinone derivatives on an experimental tumor. Journal of Pharmaceutical Sciences, 67, N^o 4, 562-563, 1978.
53. O'Neil, M.J. The Merck Index. 12th edition. -Lapachol- no. 5376:917, 1996.
54. Pahn, E.M. de; Portela, M.P.M.; Stoppani, A.O.M. Efecto de quinonas y nitrofuranos sobre *Trypanosoma mega* y *Crithidia fasciculata*. Revista Argentina de Microbiologia, 20, N^o 3, 107-118, 1988.
55. Paterno, E. Ricerche Sull Acido Lapacico. Gazz. Chim. Ital., 12:337-392, 1882.
56. Pinheiro, R. M. "Identificação de xiloidona como produto de transformação da 2-hidroxi-3-(3-metil-2-butenil)-1,4-naftoquinona (lapachol) pelo metabolismo animal", Tese de mestrado em bioquímica do Centro de Ciências Biológicas da UFPE- Recife, Brasil, págs 15-31, 1978.
57. Pinto, A.V.; Pinto, M. do C.R.; Gilbert, B. Schistosomiasis mansoni: blockage of cercarial skin penetration by chemical agents: I. naphthoquinones and derivatives. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 71, N^o 2, 133-135, 1977.
58. Pisani, D.E.; Elliott, A.J.; Hinman, D.R.; Aaronson, L.M.; Pardini, R.S. Relationship between inhibition of mitochondrial respiration by naphthoquinones, their antitumor activity, and their redox potential. Biochemical Pharmacology, 35, N^o 21, 3791-3798, 1986.
59. Preush, P.C. Lapachol inhibition of DT-diaphorase (NAD(P)H:Quinone dehydrogenase). Biochemical and Biophysical Research Communications, 137, N^o 2, 781-787, 1986.
60. Preush, P.C.; Smalley, D.M. Vitamin K, 2,3-epoxide and quinone reductase: Mechanism and inhibition. Free Radical Research Communications, 8, N^o 4-6, 401-415-0, 1990.
61. Preush, P.C.; Suttie, J.W. Lapachol inhibition of vitamin K epoxide reductase and vitamin K quinone reductase. Archives of Biochemistry and Biophysics, 234, N^o 2, 405-412, 1984.
62. Rao, K.V. Quinone natural Products: Streptonigrin (NSC-45383) and Lapachol (NSC-11905) Structure-Activity Relationships. Cancer Chemotherapy Reports part 2, 4, N^o 4, 11-17, 1974.
63. Rao, K.V.; McBride, T.J.; Oleson, J.J. Recognition and evaluation of Lapachol as an antitumor agent. Cancer Research, 28: 1952-1954, 1968.
64. Sagrero-Nieves, L. Isolation of lapachol from *Diphysa robinoides*. Journal of Natural Products, may-jun 49(3): 547, 1986.
65. Sandoval, N.A. de; Rodríguez, C.; Poch, M.; Martínez, N.R. de. Tumores provocados por Metilcolantreno y Lapachol. Seguimiento del Desarrollo Mediante Citología. APPTLA, 46, 257-264, 1996.
66. Santana, C. F., Silva, A.A..F. Primeiras observações com o emprego de lapachol em pacientes humanos portadores de neoplasias malignas. Revista do Instituto de Antibióticos, Recife, vol. 8 N. (1/2):89-94, 1981.
67. Santana, C.F. de; Lima, O.G. de; D'Albuquerque, I.L.; Lacerda, A.L.; Martins, D.G. Observações sobre as propriedades antitumorais e toxicológicas do extrato do liber e de alguns componentes do cerne do pau d'arco (*Tabebuia avellanedae*). Revista do Instituto de Antibióticos, 8, N^o 1/2, 89-94, 1968.
68. Santos, A.F., Ferraz, P.A., de Abreu, F.C., Chiari E., Goulart, M.O., Sant'Ana, A.E. Molluscicidal and trypanocidal activities of lapachol derivatives. Planta Med., febr67(1):92-3, 2001.
69. Santos, E. R. dos; Prista, L.V.N.; Lobo, J.M.S.; Santos, D.G. Estudos de difusão cutânea do Lapachol. I - Ensaios "in vitro". Revista Portuguesa de Farmácia, 41, N^o 3, 15-19, 1991.
70. Schulz, K.H.; Garbe, I.; Hausen, B.M.; Simatupang, M.H. The sensitizing capacity of naturally occurring quinones. - experimental studies in Guinea Pig. I. Naphthoquinones and related compounds. Archives for Dermatological Research, 258, N^o 1, 41-52, 1977.
71. Sester, E.A. "Avaliação Biofarmacêutica do Lapachol Tópico: ensaios in vitro e in vivo". Dissertação de mestrado em ciências farmacêuticas do Centro de Ciências da Saúde da UFPE- Recife, Brasil, págs 30-50, 1996.
72. Shetgiri NP Kokitkar SV, Sawant SN. *Radermachera xylocarpa*: the highly efficient source of lapachol and synthesis of its derivatives. Acta Pol Pharm Mar-Apr;58(2):133-5, 2001.
73. Sieber, S.M.; Mead, J.A.R.; Adamson, R.H. Pharmacology of antitumor agents from higher plants. Cancer Treatment Reports, 60, N^o 8, 1127-1139, 1976.
74. Teixeira MJ, de Almeida YM, Viana JR, Holanda Filha JG, Rodrigues TP, Prata JR Jr, Coelho IC, Rao VS, Pompeu MM. In vitro and in vivo Leishmanicidal activity of 2-hydroxy-3-(3-methyl-2-butenyl)-1,4-naphthoquinone (lapachol). Phytother Res Feb;15(1):44-8, 2001.
75. Wanick, M.C.; Bandeira, J.A.; Fernandes, R.V. Ação antiinflamatória e cicatrizante do extrato hidroalcoólico do liber do pau d'arco rôxo (*Tabebuia avellanedae*), em pacientes portadoras de cervicites e cérvico-vaginites. Revista do Instituto de Antibióticos, 10, n^o 1/2, 41-45, 1970.