

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS, ALIMENTOS E
NUTRIÇÃO**

MARIA EDUARDA AVEIRO MARTINS

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-*LEISHMANIA* DE EXTRATOS
DE *CATASETUM FIMBRIATUM* (Morren) Lindl. (*Orchidaceae*)**

**CAMPO GRANDE - MS
2025**

MARIA EDUARDA AVEIRO MARTINS

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-*LEISHMANIA* DE EXTRATOS
DE *CATASETUM FIMBRIATUM* (Morren) Lindl. (*Orchidaceae*)**

Trabalho de Conclusão de Curso submetido
à Banca Examinadora para obtenção do
Grau de Bacharel, no Curso de Farmácia da
Universidade Federal de Mato Grosso do
Sul.

Orientador: Prof. Dra. Thalita Bachelli Riul.

**CAMPO GRANDE - MS
2025**

MARIA EDUARDA AVEIRO MARTINS

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-*LEISHMANIA* DE EXTRATOS
DE *CATASETUM FIMBRIATUM* (Morren) Lindl. (*Orchidaceae*)**

Trabalho de Conclusão de Curso submetido
à Banca Examinadora para obtenção do
Grau de Bacharel, no Curso de Farmácia da
Universidade Federal de Mato Grosso do
Sul. Orientador: Prof. Dra. Thalita Bachelli
Riul.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Thalita Bachelli Riul
UFMS - Orientador

Prof. Dra. Denise Brentan da Silva
UFMS

Prof. Dr. Davi Campos La Gatta
UFMS

Dedico este trabalho e minha graduação a minha mãe, porque sei o sacrifício que fez para que eu tivesse o privilégio de chegar até aqui.

RESUMO

As leishmanioses são um problema de saúde pública crescente no Brasil, sendo considerada uma endemia de interesse prioritário, presente principalmente em países com clima tropical e subtropical. Existem dois tipos de leishmanioses que afetam seres humanos, sendo elas a leishmaniose tegumentar que se manifesta em mucosas e pele, e a leishmaniose visceral que afeta principalmente órgãos como fígado, baço e medula óssea. No Brasil os principais agentes causadores da leishmaniose tegumentar em humanos são *L. braziliensis* e *L. amazonensis*. Os tratamentos disponíveis são escassos, longos, de administração parenteral e com diversos efeitos tóxicos, o que dificulta a adesão dos pacientes e possibilita o aparecimento de cepas resistentes. Dessa forma, a pesquisa de novas substâncias com atividade antileishmania é muito necessária, e os produtos naturais oferecem uma grande fonte de metabólitos secundários com diversas atividades biológicas. O objetivo deste projeto foi avaliar a atividade anti-leishmania da espécie de orquídea *Catasetum fimbriatum*, uma orquídea nativa da América do Sul, a qual pertence a família *Orchidaceae*. A avaliação da atividade anti-leishmania desta orquídea foi feita através do extrato de diferentes partes da planta, como folhas, pseudobulbo novo e velho, raízes de nutrição e raízes de sustentação, por meio de ensaios *in vitro* utilizando formas promastigotas de *Leishmania amazonensis*, cultivadas em meio de cultura Schneider. Já sua citotoxicidade para células de mamíferos foi avaliada na linhagem de fibroblastos NIH/3T3. A maior parte dos extratos testados reduziu a viabilidade das formas promastigotas nas concentrações testadas, sendo pouco ou nada tóxico para as células NIH/3T3. Dentre os extratos testados, destacou-se o de raiz de nutrição, por ter demonstrado maior potência e seletividade. Tais resultados abrem a possibilidade de estudos futuros para o rastreamento das moléculas responsáveis pela atividade antileishmania observada, contribuindo para um maior conhecimento das potenciais atividades biológicas desta orquídea, bem como a possibilidade de se obter novas alternativas para o tratamento das leishmanioses.

Palavras-chave: leishmaniose, produto natural, extrato de planta, bioensaio

ABSTRACT

Leishmaniasis is a growing public health problem in Brazil, and is considered an endemic disease of priority concern, mainly present in countries with tropical and subtropical climates. There are two types of leishmaniasis that affect humans: cutaneous leishmaniasis, which manifests in mucous membranes and skin, and visceral leishmaniasis, which mainly affects organs such as the liver, spleen and bone marrow. In Brazil, the main causative agents of cutaneous leishmaniasis in humans are *L. braziliensis* and *L. amazonensis*. Available treatments are scarce, long, parenteral administration and have several toxic effects, which makes patient adherence difficult and allows the emergence of resistant strains. Therefore, research into new substances with antileishmanial activity is very necessary, and natural products offer a large source of secondary metabolites with diverse biological activities. The objective of this project was to evaluate the anti-leishmanial activity of the orchid species *Catasetum fimbriatum*, a native South American orchid that belongs to the *Orchidaceae* family. The evaluation of the anti-leishmanial activity of this orchid was performed through extracts from different parts of the plant, such as leaves, new and old pseudobulbs, nutritive roots and supporting roots, through in vitro assays using promastigote forms of *Leishmania amazonensis*, grown in Schneider culture medium. Its cytotoxicity to mammalian cells was evaluated in the NIH/3T3 fibroblast cell line. Most of the extracts tested reduced the viability of the promastigote forms at the concentrations tested, being little or not at all toxic to NIH/3T3 cells. Among the extracts tested, the nutritive root extract stood out, as it demonstrated greater potency and selectivity. These results open the possibility of future studies to track the molecules responsible for the observed antileishmanial activity, contributing to a greater knowledge of the potential biological activities of this orchid, as well as the possibility of obtaining new alternatives for the treatment of leishmaniasis.

Keywords: leishmaniasis, natural product, plant extract, bioassay

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Ciclo do Parasita	13
Figura 2: LT – Lesão ulcerada franca, única, arredondada, com bordas elevadas, infiltradas e fundo granuloso	14
Figura 3: LT – Forma cutânea disseminada – Lesões cutâneas com aspecto verrucoso, bordas infiltradas, com pequenas lesões nódulo-crostosas satélites e em outras áreas da face	14
Figura 4: Fase aguda: paciente com leishmaniose visceral	15
Figura 5: Período final, paciente com LV	15
Figura 6: Atividade antileishmania dos extratos de <i>Catasetum fimbriatum</i>	23
Figura 7: Avaliação da citotoxicidade dos extratos de <i>Catasetum fimbriatum</i>	24

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Resultados de CI_{50} , CC_{50} e índice de seletividade das amostras de *Catasetum fimbriatum* **26**

LISTA DE ABREVIACÕES

LV: Leishmaniose Visceral

LT: Leishmaniose Tegumentar

LTA: Leishmaniose Tegumentar Americana

BV: Pseudobulbo Velho

BN: Pseudobulbo Novo

FO: Folhas

FL: Flores

RN: Raízes de Nutrição

RS: Raízes de Sustentaco

CV: Controle de Viabilidade

CL₅₀: Concentraco Inibitória Mdia

CC₅₀: Concentraco Citotóxica Mdia

IS: ndice de Seletividade

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	12
2.1 Agente etiológico, vetor e ciclo de vida	12
2.2 Formas clínicas	13
2.3 Diagnóstico da leishmaniose visceral	15
2.4 Diagnóstico da leishmaniose tegumentar	16
2.5 Tratamentos atuais para leishmaniose	17
2.6 Produtos naturais como fontes de substâncias com atividade antileishmania	18
2.7 Orquídeas e seu uso medicinal	19
2.8 <i>Catasetum fimbriatum</i>	20
3. OBJETIVOS	20
3.1 Objetivo geral	20
3.2 Objetivos específicos	20
4. MATERIAL E MÉTODO	21
4.1 Obtenção do extrato	21
4.2 Manutenção de <i>Leishmania amazonensis</i>	21
4.3 Atividade anti-promastigota	21
4.4 Ensaio de Citotoxicidade	22
4.5 Análise dos resultados	23
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
6. CONCLUSÃO	29
REFERÊNCIAS	30

1. INTRODUÇÃO

A leishmaniose é uma doença infecciosa que afeta seres humanos e outros hospedeiros vertebrados causada por protozoários do gênero *Leishmania*, com transmissão feita por insetos hematófagos flebotomíneos, sendo popularmente conhecidos como “mosquito-palha”, que se reproduzem em matéria orgânica em decomposição (Oliveira; Santos, 2021).

Segundo a Organização Pan-Americana da Saúde, a leishmaniose se encontra dentre as doenças tropicais negligenciadas, afetando aproximadamente 12 milhões de pessoas. O Brasil está dentre os 11 países que notificam 90% de leishmaniose cutânea nas Américas. Em meio urbano, os cães são os principais reservatórios da doença para transmissão em humanos via picada de flebotomíneos (OPAS, 2022).

Em relação às manifestações clínicas, temos basicamente duas formas de leishmanioses, sendo elas as formas tegumentar e visceral: a leishmaniose tegumentar causa o aparecimento de lesões de pele ou mucosa, enquanto a leishmaniose visceral acomete órgãos como fígado, baço e medula óssea, podendo ser letal se não tratada. Os sintomas da leishmaniose visceral são: a presença de febre irregular e prolongada, anemia, indisposição, palidez, falta de apetite e perda de peso, inchaço abdominal por aumento de órgãos como fígado e baço (Brasil, 2017).

Os sintomas de leishmaniose cutânea surgem após um período de duas a três semanas após a picada do flebotomíneo, com a presença de uma pequena pápula avermelhada na pele, com aumento de tamanho até formação de uma úlcera rasa de bordas elevadas, podendo aparecer também nas mucosas do nariz e da boca. A *L.braziliensis* e *L. amazonensis* são os principais agentes causadores da leishmaniose cutânea no Brasil. O tratamento farmacológico, pode ser feito com o uso dos seguintes medicamentos: os antimoniais pentavalentes, anfotericina B lipossômica, miltefosina, paromomicina e pentamidina (Brasil, 2017).

A investigação farmacológica de plantas medicinais para o tratamento de doenças tem sido considerada prioridade pela OMS. Os produtos naturais são potenciais fontes de grande variedade de substâncias com atividade biológica. Estima-se que aproximadamente 40% dos fármacos atualmente disponíveis foram desenvolvidos direta ou indiretamente a partir de fontes naturais, a maioria destas de plantas. (Oliveira et al., 2013).

A planta escolhida para este trabalho foi a *Catasetum fimbriatum*, pertencente à família de orquídeas Orchidaceae, e do gênero *Catasetum*, sendo uma orquídea epífita nativa da América do Sul. As folhas do *Catasetum fimbriatum* são finas, elípticas, geralmente de cor verde clara, sempre apresentando-se em número de 2 a 7 por pseudobulbo e com uma variação de 15 a 35 cm de comprimento. A morfologia das orquídeas epífitas, em geral, é basicamente constituída de um rizoma com gemas laterais e frontais, de pseudobulbos, folhas, frutos, raízes e sementes (Moraes, 2002).

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Agente etiológico, vetor e ciclo de vida

A leishmaniose é uma doença infecciosa provocada por protozoários do gênero *Leishmania*, pertencentes à família Trypanosomatidae e à ordem Kinetoplastida. Esses parasitas se distinguem pela presença de um cinetoplasto, uma estrutura localizada dentro de sua mitocôndria. Seu ciclo de vida é heteroxênico, envolvendo dois estágios evolutivos: a forma amastigota, que habita o interior das células do sistema fagocitário mononuclear dos hospedeiros vertebrados, e a forma promastigota, que se desenvolve em insetos hematófagos conhecidos como flebotomíneos ou flebótomos, responsáveis por sua transmissão (BRASIL, 2017). A leishmaniose apresenta basicamente duas formas clínicas, causadas por diferentes espécies: leishmaniose cutânea e leishmaniose visceral. No Brasil, a leishmaniose cutânea é causada principalmente pelas espécies *L. braziliensis* e *L. amazonensis*, enquanto que a leishmaniose visceral é causada principalmente por *L. infantum chagasi* (Souza, 2012).

Os flebotomíneos, pequenos dípteros com cerca de 2 a 3 milímetros de comprimento, são os vetores responsáveis pela transmissão das leishmanioses. Devido ao seu pequeno porte, conseguem atravessar as malhas de certos mosquiteiros e telas protetoras. Possuem coloração que varia entre o amarelo e o cinza, asas que permanecem abertas enquanto repousam e um corpo recoberto por pelos (Fiocruz, 2019). No território brasileiro, o gênero *Lutzomyia* é o principal envolvido na disseminação de *Leishmania* spp., sendo a transmissão realizada exclusivamente pelas fêmeas hematófagas. Dependendo da região, esses insetos recebem diferentes nomes populares, como mosquito-palha, tatuquira, birigüi,

cangalhinha, asa branca, asa dura e palhinha. Seu habitat preferencial são locais úmidos, sombreados e ricos em matéria orgânica em decomposição, frequentemente encontrados em áreas com vegetação abundante (Silva, 2007).

Após a inoculação, os parasitas na forma promastigota alcançam a corrente sanguínea do hospedeiro vertebrado, sendo fagocitados por células do sistema imunológico. No interior dessas células, diferenciam-se em amastigotas, sua forma intracelular. Uma vez nessa fase, iniciam o processo de multiplicação por divisão binária. Com o tempo, essa proliferação leva à lise da célula hospedeira, permitindo a liberação dos parasitas e sua disseminação para novos fagócitos, momento em que os primeiros sinais clínicos da infecção costumam emergir. O ciclo parasitário se completa quando a fêmea do flebotomíneo realiza a hematofagia em um hospedeiro infectado, ingerindo amastigotas presentes no sangue. No interior do vetor, esses parasitas transformam-se novamente em promastigotas, tornando-se aptos a infectar novos hospedeiros vertebrados em ciclos subsequentes (Blanco; Nascimento-Júnior, 2017). Conforme exemplificado na figura 1.

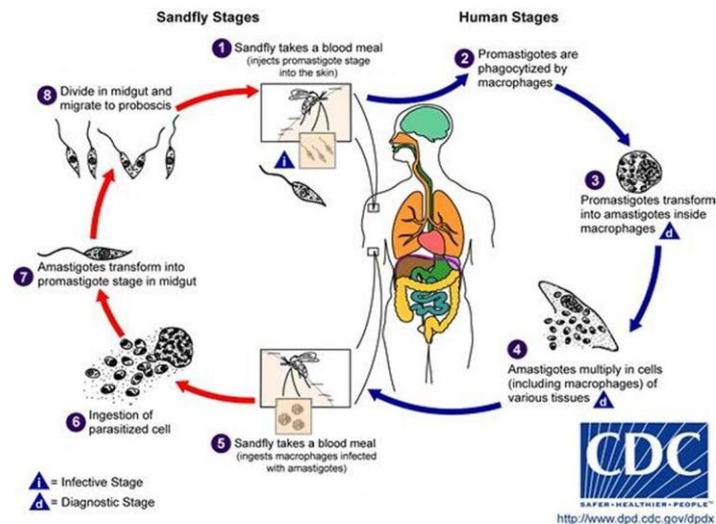


Figura 1: Ciclo de vida de *Leishmania* spp. (Fonte: Centers for Disease Control and Prevention, Global Health, Division of Parasitic Diseases and Malaria).

2.2 Formas clínicas

Leishmaniose Cutânea – Forma Localizada: corresponde à manifestação inicial da infecção na pele, caracterizada predominantemente por lesões ulceradas.

Essas úlceras tendem à cicatrização espontânea e, em geral, respondem bem ao tratamento convencional. As lesões podem ser isoladas ou ocorrer em múltiplos focos, podendo chegar a até 20 lesões em um mesmo segmento corporal (Brasil, 2017). Como demonstrado nas figuras 2 e 3 abaixo.



Figura 2: LT – Lesão ulcerada franca, única, arredondada, com bordas elevadas, infiltradas e fundo granuloso. Fonte: Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar (Fonte: Brasil, 2017)



Figura 3: LT – Forma cutânea disseminada – Lesões cutâneas com aspecto verrucoso, bordas infiltradas, com pequenas lesões nódulo-crostosas satélites e em outras áreas da face. Fonte: Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar (Fonte: Brasil, 2017)

Leishmaniose Visceral: A febre é o sinal clínico mais característico, apresentando padrão irregular ou remitente. Em seguida, destaca-se a esplenomegalia como a principal manifestação secundária, geralmente mais acentuada do que a hepatomegalia, que também se apresenta de forma persistente entre os achados clínicos (Souza, 2012). As figuras 4 e 5 ilustram a fase aguda e período final, respectivamente.



Figura 4: Fase aguda: paciente com leishmaniose visceral. Fonte: Manual de Vigilância e Controle de Leishmaniose Visceral (Fonte: Brasil, 2017).



Figura 5: Período final, paciente com LV. Fonte: Manual de Vigilância e Controle de Leishmaniose Visceral (Fonte: Brasil, 2017).

2.3 Diagnóstico da leishmaniose visceral

Diagnóstico Imunológico: Consiste na identificação de anticorpos específicos contra *Leishmania* no organismo. Diversos métodos podem ser empregados na detecção da Leishmaniose Visceral (LV), entre os quais se destacam dois exames amplamente disponibilizados pelo Sistema Único de Saúde (SUS):

- Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI): resultados são considerados positivos quando a amostra apresenta reatividade a partir da diluição de 1:80. Nos casos em que os títulos são iguais a 1:40, e há suspeita clínica de LV, recomenda-se a coleta de uma nova amostra após um intervalo de 30 dias;

- Teste Rápido Imunocromatográfico: interpretado como positivo quando há a visualização da linha de controle e da(s) linha(s) de teste C e/ou G na fita ou

dispositivo, conforme estabelecido na Nota Informativa nº 3/2018-CGLAB/DEVIT/SVS/MS (Brasil, 2017).

Diagnóstico parasitológico: É a metodologia considerada padrão-ouro, pela visualização de formas amastigotas do parasita em material biológico, obtido preferencialmente pela punção da medula óssea, considerada um procedimento mais seguro do que a punção de fígado ou baço, e mais sensível do que o exame de sangue periférico. O material aspirado deve ser avaliado seguindo esta sequência: exame direto, isolamento em meio de cultura (*in vitro*), isolamento em animais suscetíveis (*in vivo*), bem como outros métodos de diagnóstico, como PCR. Outras amostras biológicas podem ser utilizadas, tais material obtido de punção do linfonodo ou baço. Este último deve ser realizado em ambiente hospitalar e em condições cirúrgicas (Brasil, 2017).

2.4 Diagnóstico da leishmaniose tegumentar

Exame Parasitológico Direto: Recomendado como método de primeira escolha para o diagnóstico da Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) no Brasil, segundo a Fundação Nacional de Saúde (FUNASA), este exame se destaca por sua rapidez e simplicidade na coleta. A confirmação do diagnóstico ocorre, na maioria dos casos, com a visualização de formas amastigotas do parasita. A amostra pode ser obtida por raspado da lesão, punção aspirativa por agulha fina (PAF) ou por meio de lavagem da cavidade nasal e oral (Brasil, 2017).

Exame Histopatológico: Reconhecido como uma abordagem clássica na identificação da LTA, esse método requer biópsia preferencialmente realizada nas bordas das lesões, região onde se concentra maior carga parasitária. É essencial adotar cuidados rigorosos na manipulação e conservação do tecido coletado para garantir a confiabilidade da análise (Brasil, 2017).

Outro teste usado para auxiliar o diagnóstico de LTA é a Reação Intradérmica de Montenegro (IDRM), ou Teste de Montenegro, que consiste em uma resposta de hipersensibilidade tardia utilizando antígenos purificados do parasita injetados intradermicamente, que indica a ativação da imunidade celular frente ao parasita. Indivíduos previamente infectados por *Leishmania* ou expostos à picada de flebotomíneos contendo antígenos do protozoário podem apresentar reação positiva ao teste (Brasil, 2017).

2.5 Tratamentos atuais para leishmaniose

Atualmente, o tratamento da leishmaniose é fundamentado no uso de cinco principais fármacos: antimoniais pentavalentes, anfotericina B (incluindo sua formulação lipossômica), miltefosina, paromomicina e pentamidina. Ressalta-se que, excetuando-se os compostos antimoniais, os demais medicamentos não foram originalmente desenvolvidos com finalidade leishmanicida. Além disso, essas opções terapêuticas apresentam limitações relevantes, como elevada toxicidade, necessidade de tratamentos prolongados e risco de desenvolvimento de resistência por parte do parasita (Santiago et al., 2021).

Duas formulações de antimoniais pentavalentes são atualmente disponibilizadas no mercado internacional: o antimoniato de meglumina e o estibogluconato de sódio. No entanto, este último não está disponível para comercialização no Brasil (Brasil, 2017).

Durante o uso sistêmico desses medicamentos, é possível o aparecimento de diversos efeitos adversos, incluindo artralgia, mialgia, anorexia, náuseas, vômitos, sensação de plenitude gástrica, epigastralgia, pirose, dor abdominal, pancreatite, prurido, febre, fadiga, cefaleia, tontura, palpitações, insônia, nervosismo, choque pirogênico, edema e, em casos mais graves, insuficiência renal aguda (IRA). De modo geral, essas reações são classificadas como leves ou moderadas, e raramente exigem a interrupção do tratamento (Brasil, 2017).

A anfotericina B possui uma excelente taxa de cura de ~100% na dose de 0,75-1 mg/kg para 15-20 infusões intravenosas diárias ou em dias alternados. Porém, na maioria dos pacientes são apresentadas reações à infusão, como por exemplo, febre, calafrios e tromboflebite e, em alguns casos, toxicidade grave como casos de hipocalemia, miocardite e até mesmo morte. Esses efeitos adversos exigem monitoramento rigoroso e hospitalização e, em última análise, aumentam o custo da terapia (SUNDAR et al., 2010).

A miltefosina pertence à classe das alquilfosfocolinas, seu mecanismo de ação é a inibição da biossíntese de fosfolipídeos e esteróis na membrana celular do parasito, o que causa morte celular por mecanismo de apoptose em promastigotas e amastigotas de várias espécies de *Leishmania*. Sua recomendação de administração

é de 2,5 mg/kg/dia, por via oral, dividida em 2 a 3 doses por dia, até o limite de 150 mg/dia (3 cápsulas/dia), durante o período de 28 dias (Ministério da Saúde, 2020 apud Teixeira et al., 2023).

Paromomicina é um antibiótico utilizado no tratamento da leishmaniose visceral. No ano de 2006 foi classificado como um novo antibiótico aminoglicosídeo. É originária do patógeno bacteriano *Streptomyces rimosus* var. *Paramomicynus*, sendo um antibiótico de amplo espectro, utilizado para o tratamento de infestações parasitárias (Wiwanikit, 2012).

Pentamidinas pertencem às diamidinas aromáticas, elas podem ser usadas no tratamento da leishmaniose tegumentar nas áreas endêmicas dos continentes americano, asiático e africano. As pentamidinas são apresentadas como isetionato (Di-B-Hidroietano Sulfonato) de pentamidina em frasco ampola contendo 300 mg do sal (Brasil, 2017). As suas reações adversas mais recorrentes são a dor, induração e abscessos estéreis, quando aplicado de forma intramuscular (IM), bem como náuseas, vômitos, tontura, adinamia, mialgias, cefaléia, hipotensão, lipotímias, síncope, hipoglicemia e hiperglicemia. Pode haver a manifestação de diabetes mellitus a partir da administração da dose total de 2 g. Esse efeito diabetogênico é dose dependente. Devido ao medicamento ter ação tóxica aguda sobre as células beta-pancreática, pode haver hipoglicemia durante o tratamento e diabetes mellitus tardio. Outras reações adversas graves, como pancreatite, arritmias cardíacas, leucopenia, trombocitopenia, insuficiência renal aguda, hipocalcemia e taquicardia ventricular e choque anafilático, podem ocorrer (Brasil, 2017).

2.6 Produtos naturais como fontes de substâncias com atividade antileishmania

A identificação de alternativas terapêuticas mais eficazes, menos tóxicas e de fácil acesso para o tratamento das leishmanioses é essencial, especialmente para atender as populações em situação de vulnerabilidade, que são as mais afetadas. Estudos demonstram que a atividade biológica antileishmania de extratos de várias plantas se deve a presença de substâncias pertencentes a diversos grupos químicos como os alcaloides, flavonoides, taninos, esteroides, chalconas, e naftoquinonas (Sousa, 2019).

2.7 Orquídeas e seu uso medicinal

A família Orchidaceae constitui uma das maiores famílias de plantas floríferas, representando o grupo mais evoluído da super ordem Liliiflorae. Possuem características muito especializadas em atração de insetos, propiciando uma polinização cruzada. Suas flores apresentam uma estrutura uniforme, com a organização de seus órgãos vegetativos sendo bastante diversa (Oliveira; Sajo, 2001).

Várias orquídeas epífitas estão presentes na medicina tradicional. Os componentes químicos presentes nelas e sua farmacologia têm sido estudados nos últimos 15 anos. Orquídeas medicinais, de forma geral, não são submetidas a estudos farmacológicos detalhados. Alguns compostos químicos, estão presentes nelas, como alcalóides, derivados de dibenzila, flavonoides, fenantrenos e terpenóides, que foram isolados recentemente desta espécie. Os extratos e metabólitos dessas plantas, principalmente de flores e folhas, possuem atividades farmacológicas úteis, em especial às atividades diurética, anti reumática, anti-inflamatória, anticancerígena, hipoglicêmica, antimicrobiana, anticonvulsiva, relaxante, neuroprotetora e antiviral (Gutiérrez, 2010).

As epífitas vem sendo utilizadas no tratamento de diversas enfermidades, como doenças infecciosas e não infecciosas. Algumas comunidades tradicionais descrevem doenças infecciosas associadas à pele, como feridas, furúnculos, úlceras, abscessos, varíola, e não cutâneas, sendo elas febre, diarreia, úlceras, resfriados, verminoses e malária. No total 54 espécies epífitas medicinais foram prescritas para o tratamento de doenças de pele e 81 espécies para tratar doenças infecciosas não cutâneas (NUGRAHA et al., 2020).

2.8 *Catasetum fimbriatum*

Catasetum fimbriatum Lindley, é uma epífita que apresenta partes suas vegetativas compatíveis com as de outras espécies de *Catasetum*. Com inflorescência pendente e muitas flores. Suas flores são esverdeadas com máculas marrons e seu labelo apresenta uma margem fimbriada. As folhas de *Catasetum fimbriatum* possuem formato elíptico e estrutura delgada, apresentando-se, em geral, com coloração verde clara. Costumam surgir em grupos de 2 a 7 unidades por pseudobulbo, variando em comprimento entre 15 e 35 centímetros (VIEIRA, 2013). É importante salientar que *C. fimbriatum* é uma orquídea encontrada em Mato Grosso

do Sul (Barros et al., 2018) e, portanto, o estudo da atividade biológica de seus extratos é fundamental para conhecer o potencial terapêutico desta espécie.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Este trabalho teve como objetivo avaliar a atividade anti-*Leishmania* de diferentes extratos da orquídea da espécie *Catasetum fimbriatum*, por meio de ensaios colorimétricos de viabilidade celular.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar a atividade anti-leishmania *in vitro* de extratos de diferentes partes da orquídea *C. fimbriatum* por meio de ensaio colorimétrico de viabilidade em formas promastigotas de *Leishmania amazonensis*;
- Avaliar a citotoxicidade *in vitro* de extratos de diferentes partes da orquídea *C. fimbriatum* por meio de ensaio colorimétrico de viabilidade em linhagem de fibroblastos NIH/3T3.

4. MATERIAL E MÉTODO

4.1 Obtenção do extrato

O procedimento para a obtenção dos extratos foi realizado pela equipe do Laboratório de Produtos Naturais e Espectroscopia de Massas (LAPNEM/ FACFAN/ UFMS), o qual gentilmente nos cederam o material para análises de atividade biológica. Em resumo, as amostras de *Catasetum fimbriatum* foram coletadas e identificadas por especialistas e depositados no herbário da UFMS. No laboratório, as plantas foram separadas em partes: pseudobulbo velho, pseudobulbo novo, folhas, flores, raízes de nutrição e raízes de sustentação, as quais então foram secas em estufas circulantes e pulverizadas com um moinho de facas. Os materiais em pó foram armazenados em vácuo, sem a presença de luz na temperatura de 8°C até a sua extração. Os extratos obtidos foram colocados em contato com um solvente de etanol 70% por 24 horas. Após esse tempo, os materiais foram extraídos por percolação exaustiva a uma taxa de 20 gotas por minuto. Esses extratos foram concentrados em um evaporador rotativo (Büchi® Rotavapor R-153) e então foram secos por

liofilização. os diferentes extratos foram diluídos em dimetilsulfóxido (DMSO) na concentração de 25 mg/mL e filtrados em membrana de 0,22 µm para esterilização antes dos experimentos.

4.2 Manutenção de *Leishmania amazonensis*

Foram utilizadas para os experimentos *Leishmania (Leishmania) amazonensis* cepa PH8 (IFLA/BR/1967/PH8). Formas promastigotas dos parasitos foram cultivadas com repiques semanais em meio de cultura Schneider (Sigma-Aldrich/EUA), contendo soro bovino fetal a 20% (Cultilab/Brasil), 10 UI/mL de penicilina e 100 µg/mL de estreptomicina (Sigma-Aldrich/EUA) em garrafas de cultura de 25cm (Kasvi/Brasil). Para os experimentos de viabilidade *in vitro* foram utilizadas promastigotas em fase logarítmica de crescimento.

4.3 Atividade anti-promastigota

As formas promastigotas de *L. (L.) amazonensis* em fase logarítmica de crescimento em meio Schneider devidamente suplementado foram distribuídos em placas de 96 poços contendo os diferentes extratos de *Catsetum fimbriatum* a serem testados nas concentrações de 1000 a 15,625 µg/mL: pseudobulbo velho (BV), pseudobulbo novo (BN), folhas (FO), flores (FL), raízes de nutrição (RN) e raízes de sustentação (RS). As placas foram incubadas durante 48 horas a 26°C em estufa do tipo BOD, quando foi então adicionada 5 µL de solução de resazurina (Sigma-Aldrich/EUA) a 200µg/mL em cada poço. Após 4 horas de incubação a 26°C foi feita a leitura da absorbância dos poços por espectrofotometria a 570 e 600 nm (Spectramax, Molecular devices/EUA) no Laboratório de Bioquímica Geral e de Microrganismos (LBq/INBIO/UFMS). A viabilidade de todos os poços foi calculada de acordo com as informações e a fórmula disponível no website da empresa Bio-Rad disponível no link:(<https://www.biorad-antibodies.com/measuringcytotoxicity-proliferationspectrophotometry-fuorescencealamarBlue.html>). Controles de poços com DMSO 2% (v/v) e Anfotericina B 1 µM (SigmaAldrich/EUA) também foram feitos. Os poços contendo apenas os parasitos e meio são considerados como 100% de viabilidade (controle de vida - CV). Os valores da metade da dose inibitória mínima (IC₅₀) foram obtidos através de uma curva de regressão dose-resposta, não linear,

geradas pelo programa GraphPad Prism 5 (GraphPad Software, EUA) (Fermiano et al., 2024).

4.4 Ensaio de Citotoxicidade

Para avaliar a citotoxicidade dos extratos em células de mamíferos, utilizamos células NIH/3T3 (ATCC CRL-1658, linhagem de fibroblastos de camundongo). As células foram cultivadas em placas de 96 poços em meio RPMI 1640 (Sigma – Aldrich, EUA) contendo soro bovino fetal a 10% (Cultilab/Brasil), 10 UI/mL de penicilina e 100 µg/mL de estreptomicina (Sigma-Aldrich/EUA). As amostras dos diferentes extratos de *C. fimbriatum* foram diluídas no referido meio nas concentrações de 1000 a 15,625 µg/ml e posteriormente, a microplaca foi incubada por 48 horas em estufa a 37°C e 5% de CO₂. Após esse tempo, foi adicionada 5 µL de solução de resazurina (Sigma-Aldrich/EUA) a 200µg/mL em cada poço, e as placas foram novamente incubadas por 4 horas a 37°C e 5% de CO₂ a fim de avaliar a viabilidade celular. As absorbâncias foram lidas em 570 e 600 nm e a viabilidade celular foi avaliada conforme descrito na metodologia da seção anterior. As absorbâncias foram lidas em 570 e 600 nm e a concentração citotóxica semi máxima (CC₅₀) foi calculada partir de uma regressão sigmoide da curva dose-resposta gerada usando o software GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Software, EUA) (Fermiano et al., 2024).

4.5 Análise dos resultados

Todos os experimentos foram realizados em triplicata e calculadas a média e o desvio padrão para cada uma das determinações. Os testes estatísticos foram realizados com auxílio do GraphPad Prism 5.0. O nível de significância será de 5%.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para avaliar a atividade antileishmania dos diferentes extratos de *Catsetum fimbriatum*, as amostras foram diluídas em meio Schneider devidamente suplementado, com concentrações variando de 15,625 a 1000 µg/mL, e incubadas com formas promastigotas de *L. amazonensis* por 48 horas a 26°C. Após esse período, a viabilidade das células foi avaliada por espectrofotometria pelo método da resazurina, e os resultados estão na Figura 6.

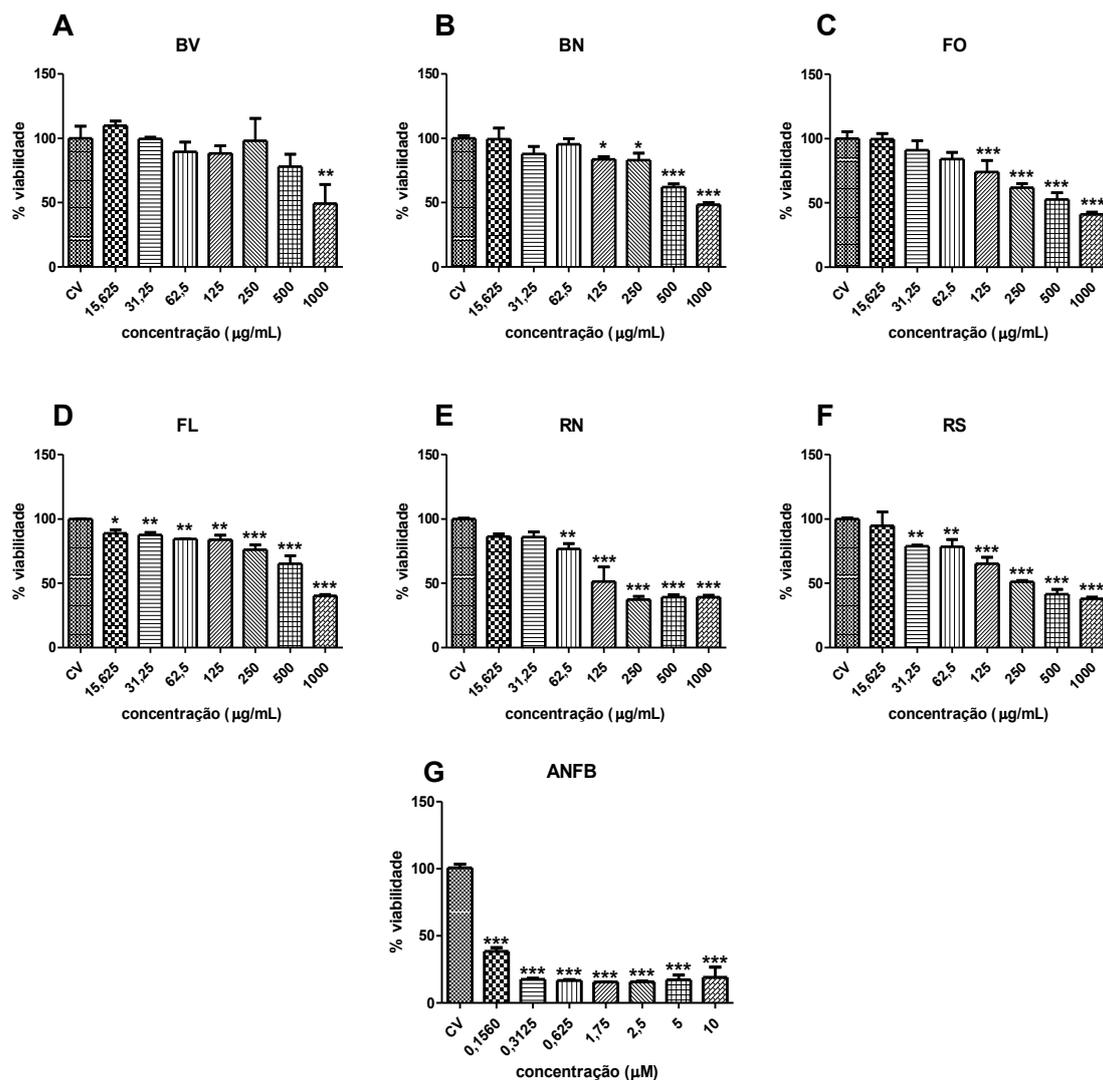


Figura 6: Atividade antileishmania dos extratos de *Catsetum fimbriatum*. Extratos de diferentes partes da planta foram incubados com formas promastigotas de *L. amazonensis* por 48 horas, e a viabilidade foi avaliada por espectrofotometria. A - pseudobulbo velho e B - novo (BV e BN), C - folhas (FO), D - flores (FL), E - raízes de nutrição (RN) e F - raízes de sustentação (RS). *, ** e *** significam $p < 0,05$, $p < 0,01$ e $p < 0,001$, respectivamente (One-way ANOVA seguido de pós-teste de Tukey)

Podemos observar que todos os extratos testados reduziram a viabilidade das formas promastigotas na concentração de 1000 µg/mL em relação ao controle de viabilidade (CV, apenas parasitos com meio de cultura). No entanto, essa redução da viabilidade pareceu ser mais evidente e dose-dependente para as amostras RN e RS (raízes de nutrição e de sustentação, respectivamente). Os extratos de FO, FL e BN (folhas, flores e pseudobulbo novo) também reduziram a viabilidade dos parasitos nas condições testadas, porém em menor grau.

Os extratos de *C. fimbriatum* também foram avaliados quanto à citotoxicidade

na linhagem celular NIH/3T3, fibroblastos de camundongo. As células foram incubadas com diferentes concentrações dos extratos (de 15,625 a 1000 $\mu\text{g/mL}$) em meio RPMI devidamente suplementado por 48 horas a 37°C e 5% de CO_2 . Após esse período, a viabilidade das células também foi avaliada pelo método da resazurina, e os resultados estão ilustrados na Figura 7. Podemos observar que os extratos BV e FL não apresentaram citotoxicidade às células NIH/3T3 nas condições testadas. Já os extratos BN, FO e RN (pseudobulbo novo, folhas e raiz de nutrição, respectivamente) foram citotóxicos apenas na concentração de 1000 $\mu\text{g/mL}$, enquanto o extrato RS (raiz de sustentação) foi citotóxico nas maiores concentrações testadas (500 e 1000 $\mu\text{g/mL}$).

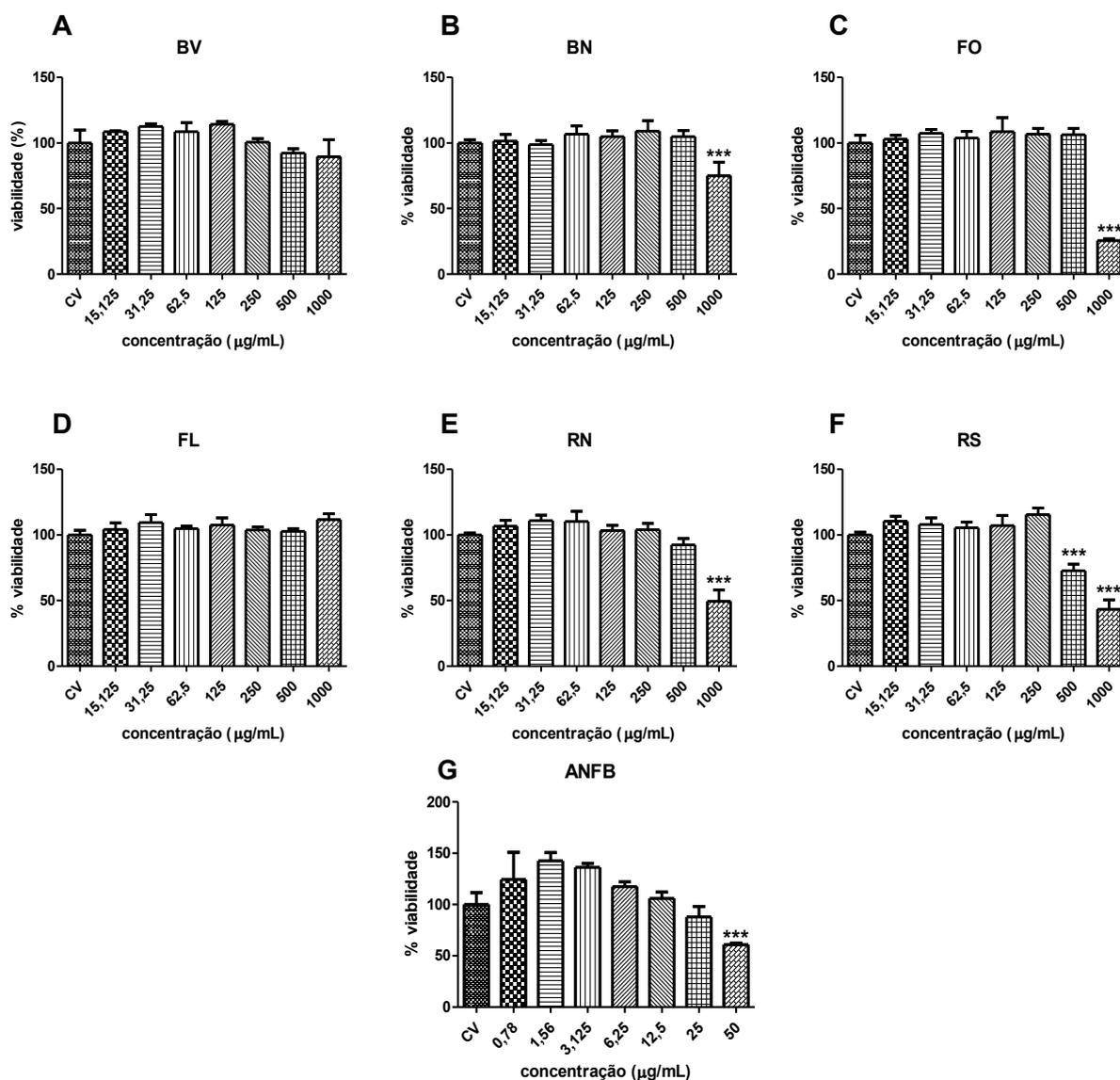


Figura 7: Avaliação da citotoxicidade dos extratos de *Catasetum fimbriatum*. Extratos de diferentes partes da planta foram incubados com fibroblastos da linhagem NIH/3T3 por 48 horas, e a viabilidade

foi avaliada por espectrofotometria. A - pseudobulbo velho e B - novo (BV e BN), C - folhas (FO), D - flores (FL), E - raízes de nutrição (RN), F - raízes de sustentação (RS), G - Anfotericina b (ANFB). *, ** e *** significam $p < 0,05$, $p < 0,01$ e $p < 0,001$, respectivamente (One-way ANOVA seguido de pós-teste de Tukey).

Para uma melhor interpretação dos resultados obtidos de atividade antileishmania e citotoxicidade, foi feita uma regressão não linear dos resultados obtidos para o cálculo das concentrações inibitórias de 50% das células e concentrações citotóxicas de 50% das células (CI_{50} e CC_{50} , respectivamente). Além disso, o índice de seletividade de cada amostra foi calculado a partir dos resultados obtidos para CI_{50} e CC_{50} . Todos esses resultados estão expressos na Tabela 1.

Tabela 1: Resultados de CI_{50} , CC_{50} e índice de seletividade das amostras de *Catsetum fimbriatum*

amostra	CI_{50} promastigotas <i>L. amazonensis</i> ($\mu\text{g/mL}$)	CC_{50} fibroblastos NIH/3T3 ($\mu\text{g/mL}$)	Índice de seletividade (IS)
BV	390,1	> 1000	> 2,56
BN	185,3	> 1000	> 5,4
FO	134,4	637,8	4,7
FL	247,2	> 1000	> 4,0
RN	71,2	520,5	7,3
RS	92,1	489,1	5,3
ANFB	0,04	39,31	982,8

CI_{50} : concentração inibitória de 50% nas células promastigotas; CC_{50} : concentração citotóxica em 50% das células NIH/3T3; IS: índice de seletividade, obtido pela razão entre CC_{50} e CI_{50} ; ANFB: anfotericina B (em μM). BV: Pseudobulbo Velho; BN pseudobulbo Novo; FO: Folhas; FL: Flores; RN: Raiz de Nutrição; RS: Raiz de Sustentação.

Observando os resultados das Figuras 6 e 7 e da Tabela 1, podemos notar que os extratos de *C. fimbriatum* que reduziram de forma significativa e dose dependente a viabilidade de formas promastigotas de *L. amazonensis* nas condições testadas foram BN, FO, RN e RS: tais amostras apresentaram redução da viabilidade do parasito nas maiores concentrações testadas de forma dose-dependente, e as CI_{50}

obtidas foram as menores em relação aos demais extratos testados, especialmente RN e RS, respectivamente.

Em relação à citotoxicidade das amostras frente às células NIH/3T3, a maioria apresentou CC₅₀ acima de 400 µg/mL, sendo que BV, BN e FL não foram citotóxicas nas condições testadas, cuja maior concentração foi de 1000 µg/mL. Já o índice de seletividade (IS) de cada extrato foi obtido pela razão da CC₅₀ pela CI₅₀ de cada amostra, e encontra-se na Tabela 1. Quanto maior o IS, maior a seletividade de uma amostra em reduzir a viabilidade da célula dos parasitos do que das células de mamíferos testadas (Silveira 2015). Dessa forma, as amostras RN e RS foram as que apresentaram maior seletividade (IS 7,3 e 5,3, respectivamente), seguidas por BN (IS estimada, já que CC₅₀ é maior que 1000 µg/mL, mas não sabemos exatamente quanto) e FO.

O índice de seletividade (IS), definido como a razão entre a concentração citotóxica semi-máxima (CC₅₀) em células de mamíferos e a concentração inibitória efetiva (IC₅₀) frente ao parasito, é um parâmetro crucial na triagem de substâncias bioativas, especialmente em estudos com extratos naturais. Em geral, valores de IS superiores a 10 são considerados promissores, pois indicam que o extrato é significativamente mais tóxico ao parasito do que às células hospedeiras, sugerindo um bom perfil de seletividade (Mikus & Steverding, 2000; Rayan et al., 2017). No entanto, para compostos isolados, especialmente em fases mais avançadas de desenvolvimento, valores mais elevados, como IS > 20 ou até > 50, são preferíveis para garantir maior segurança e eficácia (Gervazoni et al, 2020). Cabe destacar que, em extratos brutos ou frações, variações no IS são esperadas devido à complexidade da matriz química, sendo ainda assim úteis na identificação de matrizes vegetais promissoras para o isolamento de substâncias bioativas. Portanto, o uso do IS como critério de seleção contribui para priorizar amostras com melhor potencial terapêutico e menor citotoxicidade, orientando os estágios iniciais da pesquisa de novos agentes antileishmania.

É interessante observar também os resultados obtidos para a anfotericina B, fármaco de segunda escolha para o tratamento de leishmanioses: apesar de bastante tóxica para as células da linhagem NIH/3T3 (CC₅₀ de 39,31 µM), esta é bastante ativa contra o parasito (CI₅₀ de 0,04 µM), o que se reflete num IS de 982,8. Esse resultado pode variar bastante de acordo com as cepas de *Leishmania*, as linhagens celulares e as condições usadas em cada experimento (Cohen, Azas, 2021). Apesar de se

tratar de um experimento *in vitro*, os efeitos tóxicos da anfotericina B para os pacientes são bem conhecidos (Brasil, 2017).

A família *Orchidaceae* representa o maior agrupamento de plantas floríferas entre as monocotiledôneas angiospermas, com ampla distribuição global. Suas espécies, comumente denominadas orquídeas, são predominantemente ervas ou epífitas, reconhecidas por suas flores ornamentais e concentradas principalmente em regiões tropicais. Diversas classes de fitoconstituintes vêm sendo isoladas a partir de orquídeas com uso medicinal, evidenciando uma notável diversidade química. Em 2017, Sut e colaboradores fizeram uma revisão da literatura referente às orquídeas empregadas na medicina tradicional, apontando para seu elevado potencial como fonte de novas entidades químicas promissoras no desenvolvimento de fármacos. Dentre esses compostos, os derivados fenólicos têm se destacado pelas suas propriedades biológicas, com ênfase em atividades antitumorais, anti-inflamatórias e neuroprotetoras. Por outro lado, o conhecimento atual sobre os alcaloides e terpenoides extraídos de diferentes espécies de orquídeas ainda é limitado. Entretanto, estudos recentes demonstram efeitos relevantes de determinados alcaloides sobre o sistema nervoso central (Sut et al., 2017).

Em 2023, Pomini e colaboradores revisaram os usos tradicionais, estudos fitoquímicos e farmacológicos realizados com espécies de orquídeas nativas das Américas e das ilhas do Caribe. O tratamento da inflamação é o uso mais tradicional das plantas dessa família, especialmente na América Central, enquanto os ensaios anti-inflamatórios e anticancerígenos são frequentemente relatados em investigações farmacológicas. Do ponto de vista químico, elas são fontes de fenantrenoides e estilbenos, metabólitos secundários raros que não são comumente encontrados em outras famílias de plantas, bem como triterpenos cicloartânicos, alcaloides pirrolizidínicos e flavonoides. Como apenas algumas espécies foram estudadas química e farmacologicamente, em comparação com o grande número de espécies nativas (menos de 0,5% do total), os autores concluem que as orquídeas do Novo Mundo podem ser um nicho interessante para a descoberta de novos produtos naturais bioativos (Pomini et al., 2023)

Considerando ainda a atividade biológica de estilbenos, um estudo avaliou uma série de derivados de *trans*-estilbeno e terfenil frente às formas promastigotas, amastigotas e amastigotas intracelulares de *Leishmania infantum*. Entre os compostos testados, destacaram-se um *trans*-estilbeno e um terfenil, ambos com

perfis promissores de atividade e segurança. O terfenil, em especial, demonstrou eficácia leishmanicida superior à do fármaco de referência pentostam, além de induzir apoptose seletiva nas formas parasitárias, sem comprometer a viabilidade de macrófagos e células epiteliais primárias. Esses achados reforçam o potencial de derivados de terfenil e estilbeno como candidatos para novas abordagens terapêuticas contra a leishmaniose (Castelli et al., 2016).

Apesar dos diversos estudos sobre a atividade biológica de diferentes gêneros da Orchidaceae, poucos estudos trazem essas informações a respeito do gênero *Catasetum*. A maior parte dos artigos traz estudos descritivos botânicos, ou sobre a composição química dos perfumes florais/óleos essenciais e os agentes polinizadores associados ao gênero *Catasetum* (de Vasconcelos et al., 2023; Milet-Pinheiro; Gerlach, 2017). Suas flores produzem fragrâncias intensas que funcionam como atrativos e recompensas olfativas para machos de abelhas euglossinas. Durante a coleta desses compostos voláteis, os machos podem inadvertidamente retirar o polinário de flores masculinas e, posteriormente, introduzi-lo na fenda estigmática de flores femininas, promovendo a polinização (Milet-Pinheiro; Gerlach, 2017).

Um estudo com outra espécie descreveu a atividade inflamatória do gênero *Catasetum*. Os pseudobulbos de *Catasetum macroglossum*, tradicionalmente utilizados como anti-inflamatórios tópicos no Equador, demonstraram atividade anti-inflamatória significativa em modelo animal, com redução de 60% a 80% do edema induzido por carragenina. A análise fitoquímica indicou a presença de açúcares redutores compatíveis com glucomananos e traços de compostos fenólicos, como fenantreno e estilbeno, sugerindo que esses constituintes podem estar envolvidos no efeito observado (Ramos et al., 2012).

Dessa forma, considerando as atividades antileishmania observadas para os extratos de *C. fimbriatum* neste trabalho, a descrição dos componentes químicos encontrados em outras plantas da família Orchidaceae e do gênero *Catasetum*, mais estudos são necessários elucidar possíveis metabólitos secundários envolvidos nesta atividade antileishmania. Realizar o fracionamento dos extratos mais ativos, bem como avaliar a composição fitoquímica dessas frações, juntamente com novos ensaios *in vitro* de viabilidade podem abrir caminho para a elucidação de compostos bioativos nessa espécie, colaborando tanto com o conhecimento sobre esta planta para sua preservação, bem como o desenvolvimento de novas terapias para leishmanioses.

6. CONCLUSÃO

Apesar da família Orchidaceae possuir diversos gêneros com diferentes atividades biológicas descritas e uso na medicina tradicional, a *Catasetum fimbriatum* possui poucos estudos relacionados a sua composição fitoquímica. Os resultados obtidos na avaliação antileishmania desta orquídea em questão foram promissores, mas necessitam de novos estudos e testes, de forma a rastrear as substâncias envolvidas nessa atividade, levando em consideração a rica gama de atividades biológicas que a família Orchidaceae descrita na literatura. A necessidade de um tratamento eficaz e menos tóxico para a leishmaniose reforça a importância da investigação contínua de novas fontes naturais, como as orquídeas, que possuem potencial terapêutico. Nesse contexto, pesquisas futuras com *C. fimbriatum* devem incluir abordagens fitoquímicas detalhadas, ensaios biológicos variados e metodologias mais sensíveis, a fim de explorar melhor seu potencial farmacológico e contribuir com alternativas promissoras no combate à leishmaniose.

REFERÊNCIAS

ACADEMIC JOURNALS. Journal of Medicinal Plants Research. Disponível em: <http://www.academicjournals.org/JMPR>. Acesso em: 17 jun. 2025.

AKHOUNDSI, M. et al. Leishmania major: development of an experimental model of transmission by sand fly bite. PLoS Neglected Tropical Diseases, v. 4, n. 3, 2010. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2889656/>. Acesso em: 15 jun. 2025.

ALMEIDA, M. E. et al. Fenologia e anatomia dos órgãos reprodutivos de *Catasetum fimbriatum* (Orchidaceae). [S.l.]: [s.n.], [2010?]. Disponível em: https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/37000531/Morfologia_de_catasetum_fimbriatum-libre.pdf. Acesso em: 15 jun. 2025.

AZEVEDO, T. S. P. et al. Leishmaniose tegumentar americana: revisão de literatura. Anais Brasileiros de Dermatologia, v. 87, n. 3, p. 419–424, 2012. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abd/a/BhTqxg6L97vmnRSn36Wd9Mz/?lang=pt>. Acesso em: 15 jun. 2025.

BARROS, Fábio de; HALL, Climbiê Ferreira; PAIVA NETO, Vespasiano Borges de; BATISTA, João Aguiar Nogueira. Check-list das Orchidaceae do estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. *Iheringia, Série Botânica*, Porto Alegre, v. 73, supl., p. 287–296, 15 mar. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.21826/2446-8231201873s287>. Acesso em: 15 jun. 2025.

BLANCO, V. R.; NASCIMENTO-JÚNIOR, N. M. Leishmaniose: aspectos gerais relacionados com a doença, o ciclo do parasita, fármacos disponíveis, novos protótipos e vacinas. *Revista Virtual de Química*, Rio de Janeiro, v. 9, n. 3, p. 861-876, 2017. Acesso em: 15 jun. 2025.

BRASIL. Ministério da Saúde. Leishmaniose. Brasília, DF: Ministério da Saúde, [s.d.]. Disponível em: <https://bvsm.sau.gov.br/leishmaniose-2/>. Acesso em: 31 maio 2025.

BRASIL. Ministério da Saúde. Leishmaniose visceral. Brasília, DF: Ministério da Saúde, [s.d.]. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z//leishmaniose-visceral>. Acesso em: 15 jun. 2025.

BRASIL. Ministério da Saúde. Manual de vigilância da leishmaniose tegumentar. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2017. Disponível em: https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_leishmaniose_tegumentar.pdf. Acesso em: 15 jun. 2025.

BRASIL. Ministério da Saúde. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral: primeira edição. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2014. Disponível em: https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_controle_leishmaniose_visceral_1edicao.pdf. Acesso em: 16 jun. 2025.

BRASIL. Ministério da Saúde. Saiba quais são os tipos, os sintomas e a transmissão das leishmanioses em humanos. Brasília, DF, 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/pt-br/noticias/saude-e-vigilancia-sanitaria/2021/10/saiba-quais-sao-os-tipos-os-sintomas-e-a-transmissao-das-leishmanioses-em-humanos>. Acesso em: 31 maio 2025.

CASTELLI, G. et al. In vitro antileishmanial activity of trans-stilbene and terphenyl compounds. *Experimental Parasitology*, v. 166, p. 1–9, 5 mar. 2016. Acesso em: 15 jun. 2025.

DE VASCONCELOS, M. et al. Volatile Constituents from *Catasetum* (Orchidaceae) Species with Occurrence in the Brazilian Amazon. *Plants*, v. 12, n. 4, p. 703–703, 5 fev. 2023. Acesso em: 15 jun. 2025.

Fermiano, Maria Helena; Das Neves, Amarith Rodrigues; Da Silva, Fernanda; Barros, Manuella Salustiano Andrade; Vieira, Camila Barbosa; Stein, André L.; Frizon, Tiago Elias Allievi; Braga, Antonio Luiz; Arruda, Carla Cardozo Pinto de; Parisotto, Eduardo Benedetti; et al. Selenium-Containing (Hetero)Aryl Hybrids as Potential Antileishmanial Drug Candidates: In Vitro Screening against *L. amazonensis*. *Biomedicines*, v. 12, n. 1, p. 213, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/biomedicines12010213>. Acesso em: 15 jun. 2025.

FIOCRUZ. *Leishmanioses: conheça os insetos transmissores e saiba como se prevenir*. Portal Fiocruz, 23 ago. 2019. Acesso em: 15 jun. 2025.

FONSECA, M. C. S. Análise da distribuição espaço-temporal da leishmaniose visceral no município de Belo Horizonte/MG: 2007 a 2018. 2020. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2020. Disponível em: <https://repositorio.ufmg.br/handle/1843/39378>. Acesso em: 17 jun. 2025.

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ (FIOCRUZ). *Leishmanioses: conheça os insetos transmissores e saiba como se prevenir*. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2019. Disponível em: <https://fiocruz.br/noticia/2019/08/leishmanioses-conheca-os-insetos-transmissores-e-saiba-como-se-prevenir>. Acesso em: 15 jun. 2025.

GERVAZONI, L. F. O. et al. Use of Natural Products in Leishmaniasis Chemotherapy: An Overview. *Frontiers in Chemistry*, v. 8, 23 nov. 2020. Acesso em: 15 jun. 2025.

Mikus, J., & Steverding, D. (2000). A simple colorimetric method to screen drug cytotoxicity against *Leishmania* using the dye Alamar Blue®. *Parasitology International*, 48(3), 265–269. Disponível em. [https://doi.org/10.1016/S1383-5769\(99\)00020-3](https://doi.org/10.1016/S1383-5769(99)00020-3). Acesso em: 15 jun. 2025.

MILET-PINHEIRO, P.; GERLACH, G. Biology of the Neotropical orchid genus *Catasetum* : A historical review on floral scent chemistry and pollinators. *Perspectives in Plant Ecology Evolution and Systematics*, v. 27, p. 23–34, 10 jun. 2017. Acesso em: 15 jun. 2025.

MORAES, Cristiano Pedroso de. FENOLOGIA E ANATOMIA DOS ÓRGÃOS REPRODUTIVOS DE *Catasetum fimbriatum* LINDLEY CULTIVADOS SOB DIFERENTES INTENSIDADES LUMINOSAS. 2002. Tese de Doutorado. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11144/tde-13112002-135415/publico/cristiano.pdf>. Acesso em: 20 jun. 2025.

MSD MANUALS. Ciclo de vida da *Leishmania*. [S.l.]: MSD, [s.d.]. Disponível em: <https://www.msmanuals.com/pt/profissional/multimedia/image/ciclo-de-vida-da-leishmania>. Acesso em: 31 maio 2025.

NASCIMENTO, M. S. et al. Avaliação do conhecimento sobre leishmaniose visceral entre agentes comunitários de saúde. *Brazilian Journal of Development*, v. 8, n. 5, p. 32184–32192, 2022. Disponível em: <https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BRJD/article/view/62510>. Acesso em: 16 jun. 2025.

NASCIMENTO, T. C. M. et al. Aspectos epidemiológicos e controle da leishmaniose no Brasil. *Revista Virtual de Química*, v. 9, n. 3, p. 1344-1356, 2017. Disponível em: <http://static.sites.s bq.org.br/rvq.s bq.org.br/pdf/v9n3a04.pdf>. Acesso em: 31 maio 2025.

NUGRAHA, Ari Satia et al. Vascular epiphytic medicinal plants as sources of therapeutic agents: their ethnopharmacological uses, chemical composition, and biological activities. *Biomolecules*, v. 10, n. 2, p. 181, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/biom10020181>. Acesso em: 17 jun. 2025.

OLIVEIRA, Alana de Jesus; SANTOS, Tainara de Oliveira. A leishmaniose visceral: uma revisão de literatura. *Research, Society and Development*, v. 10, n. 5, p. e43210516543, 2021. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/16543/14807>. Acesso em: 31 maio 2025.

OLIVEIRA, Virginia del Carmen; SAJO, Maria das Graças. Morfo-anatomia caulinar de nove espécies de Orchidaceae. *Acta Botanica Brasílica*, v. 15, n. 2, p. 177–188, 2001. Acesso em: 15 jun. 2025.

OLIVEIRA, Luiz Filipe G.; GILBERT, Benjamin; VILLAS BÔAS, Glauco K. Oportunidades para inovação no tratamento da leishmaniose usando o potencial das plantas e produtos naturais como fontes de novos fármacos. *Revista Fitos*, Rio de Janeiro, v. 8, n. 1, p. 1–72, jan./mar. 2013. Acesso em: 15 jun. 2025.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE (OPAS). Leishmaniose. [S.l.]: OPAS, [2023]. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/topicos/leishmaniose>. Acesso em: 31 maio 2025.

PETERS, N. C. et al. Vector transmission of *Leishmania* abrogates vaccine-induced protective immunity. *PLoS Pathogens*, v. 8, n. 6, 2012. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3395406/>. Acesso em: 15 jun. 2025.

POMINI, A. M. et al. Bioactive natural products from orchids native to the Americas - A review. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 95, n. suppl 1, 2023. Acesso em: 15 jun. 2025.

RAMOS, Pablo et al. Phytochemical profile and anti-inflammatory effect of the orchid *Catasetum macroglossum*. *Latin American Journal of Pharmacy*, v. 31, n. 1, p. 62–67, 2012. Acesso em: 15 jun. 2025.

RAYAN, A.; RAIYN, J.; FALAH, M. Nature is the best source of anticancer drugs: Indexing natural products for their anticancer bioactivity. *PLOS ONE*, v. 12, n. 11, p. e0187925, 9 nov. 2017. Acesso em: 15 jun. 2025.

SANTOS, J. L. dos. Leishmaniose no Brasil: panorama epidemiológico e desafios no controle. [S.l.]: CORE, 2020. Disponível em: <https://core.ac.uk/download/pdf/267891913.pdf>. Acesso em: 15 jun. 2025.

SANTIAGO, Alexandre Silva; PITA, Samuel Silva; PITA, Samuel Silva; GUIMARÃES, Elisalva Teixeira. Tratamento da leishmaniose, limitações da terapêutica atual e a necessidade de novas alternativas: uma revisão narrativa. *Research, Society and Development*, v. 10, n. 7, e29510716543, jun. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i7.16543>. Acesso em: 15 jun. 2025.

SILVA, E. A.; ANDREOTTI, R.; HONER, M. R. Comportamento de *Lutzomyia longipalpis*, vetor principal da leishmaniose visceral americana, em Campo Grande, Estado do Mato Grosso do Sul. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2007. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/316897/comportamento-de-lutzomyia-longipalpis-vetor-principal-da-leishmaniose-visceral-americana-em-campo-grande-estado-do-mato-grosso-do-sul>. Acesso em: 15 jun. 2025.

Silveira, Michele Maria Xavier. Estudo de um derivado de aminoquinolina: citotoxicidade em macrófagos, potencial efeito em *Leishmania amazonensis* e mitocôndria. 2015. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2015. Disponível em:

<https://www2.ufjf.br/farmacia/wp-content/uploads/sites/161/2015/04/TCC-Michele-Maria-Xavier-Silveira.pdf>. Acesso em: 15 jun. 2025

SOUSA, A. G. et al. Leishmaniose tegumentar: aspectos clínicos e epidemiológicos. Revista Nova Esperança, v. 13, n. 2, 2020. Disponível em: <http://revistanovaesperanca.com.br/index.php/revistane/article/view/410/387>. Acesso em: 16 jun. 2025.

SOUSA, C. M. et al. Atividade antileishmania de extratos vegetais: uma revisão sistemática. Revista Fitos, v. 13, n. 2, p. 140–152, 2019. Disponível em: <https://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/192/172>. Acesso em: 15 jun. 2025.

SOUZA, A. *Retrospectiva e perspectiva no diagnóstico da Leishmaniose visceral humana*. Monografia (especialização), Universidade Federal de Minas Gerais, 2012

SCIELO. Morfo-anatomia caulinar de nove espécies de Orchidaceae. Acta Botanica Brasilica. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abb/a/Bw3zPbSsFvQ3krqgRbHhkHJ/?format=pdf&lang=pt>.

Acesso em: 17 jun. 2025.

SUT, S.; MAGGI, F.; DALL'ACQUA, S. Bioactive Secondary Metabolites from Orchids (Orchidaceae). Chemistry & Biodiversity, v. 14, n. 11, 21 out. 2017. Acesso em: 17 jun. 2025

VIEIRA, G. D. F. et al. Leishmaniose tegumentar americana: uma revisão narrativa. Brazilian Journal of Health Review, v. 5, n. 6, p. 21390–21402, 2022. Disponível em: <https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BJHR/article/view/62095/44699>.

Acesso em: 15 jun. 2025.

VIEIRA, Aleson. Citogenética e quantificação de DNA de cinco espécies e um híbrido do gênero *Catasetum* (Orchidaceae). Alta Floresta-MT: Universidade do Estado de Mato Grosso, Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, 2013. Dissertação (Mestrado). Disponível em: https://portal.unemat.br/media/oldfiles/pgmp/docs/dissertacoes/turma2012/ALESON_VIEIRA.pdf. Acesso em: 17 jun. 2025.

