UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS – UFAM
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIAS - ICET
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA PARA RECURSOS AMAZÔNICOS – PPGCTRA

KELLY NASCIMENTO BENTO

Caracterização química e atividade antileishmania das cascas de *Aspidosperma Excelsum* Benth (Apocynaceae)

ITACOATIARA-AM

2025

KELLY NASCIMENTO BENTO

Caracterização química e atividade antileishmania das cascas de *Aspidosperma Excelsum* Benth (Apocynaceae)

Dissertação apresentada ao Programa De Pós-Graduação em Ciência E Tecnologia Para Recursos Amazônicos da Universidade Federal Do Amazonas, como Requisito Parcial Para a Obtenção do Título de Mestra em Ciência E Tecnologia Para Recursos Amazônicos. Na Linha de Pesquisa: Prospecção Química, Biológica e Desenvolvimento de Substâncias Bioativas.

Orientadora: Profa. Dra. Dominique Fernandes de Moura do Carmo

ITACOATIARA-AM

2025

À minha família, em especial aos meus pais Francismary Nascimento e Mateus de Souza Bento e marido José Kerlison Serrão.

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, pela força e pelas oportunidades que tornaram possível a realização deste sonho.

Aos meus pais, Francismary Nascimento Bento (mais conhecida como Mariza) e Mateus de Souza Bento, por todo amor, apoio e dedicação, e por acreditarem na educação como o maior legado que poderiam nos deixar. Aos meus irmãos — Nathália e Kevin — pela presença constante e incentivo em todos os momentos.

Ao meu marido, José Kerlison da Silva Serrão, pelo amor, paciência e apoio incondicional, fundamentais para que eu seguisse firme nesta caminhada acadêmica.

À Universidade Federal do Amazonas (UFAM), ao Instituto de Ciências Exatas e Tecnologia e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia para Recursos Amazônicos, pela oportunidade de aprimorar meus conhecimentos e contribuir com a pesquisa na região amazônica.

À minha orientadora, Profa. Dra. Dominique Fernandes de Moura do Carmo, pela confiança, orientação, ensinamentos e incentivo ao longo desses quase 3 anos de parceria. Aos professores Dr. Bruno Bezerra Jensen e Dr. Jean Michel dos Santos Menezes, pelas valiosas contribuições e disponibilidade nas minha avaliações de qualificação e defesa.

Ao Instituto Gonçalo Moniz (FIOCRUZ/BA), especialmente ao Dr. Diogo Rodrigo de Magalhães Moreira e equipe do LETI, e ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), na pessoa do Prof. Dr. João Vicente de Souza, pelas colaborações nas análises e ensaios realizados.

Ao time do Laboratório de Leishmaniose e Doenças de Chagas/COSAS/INPA pela parceria nas análises das atividades biológicas em especial a pessoa do professor Bruno e sua aluna Rebecca Hanada que dedicou parte do seu tempo para analisar minhas amostras.

A Tea Milena como carinhosamente a chamo, por todo apoio durante o processo de mestrado, a minha colega e amiga Prof Keicy Carvalho que me deu apoio durante meu estágio em docência, a Tea Rhanna Victória pelas palavras de incentivo durante períodos turbulentos que passei, meu muito obrigada meninas!

À CAPES e à FAPEAM, pelo apoio financeiro e incentivo à pesquisa. E a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho, minha sincera gratidão.

“Não tenha medo de cometer erros,

tenha medo de não aprender com eles’’

Renato Russo

RESUMO

As Doenças Tropicais Negligenciadas (DTNs) afetam mais de 1 bilhão de pessoas, principalmente em populações vulneráveis, gerando impactos sociais e econômicos significativos. A leishmaniose destaca-se entre essas doenças devido às limitações terapêuticas, como toxicidade, alto custo e resistência crescente. Nesse cenário, a biodiversidade amazônica surge como fonte promissora de compostos bioativos. O gênero Aspidosperma, tradicionalmente utilizado no tratamento de doenças infecciosas, é rico em alcaloides indólicos com propriedades antimicrobianas e antileishmania. Este estudo caracterizou quimicamente os extratos das cascas de *Aspidosperma excelsum* Benth. e avaliou suas atividades antioxidante e antileishmania contra *Leishmania (Viannia) guyanensis*. A análise por ESI-MS identificou diversos alcaloides indólicos, como reserpilina, ioimbina, ajmalicina, 11-metoxi-ioimbina, ácido iombínico, corinanteidol e ácido quínico, distribuídos de forma distinta entre os extratos. O extrato AEME apresentou a maior atividade antioxidante em todos os ensaios (DPPH•, ABTS•+, FRAP), enquanto AEAC se destacou nos testes ABTS•+ e FRAP. Quanto à atividade antileishmania, AEAC apresentou IC_{50} de 26,8 µg/mL (24h) e 24,6 µg/mL (48h), configurando-se como o mais promissor, seguido por AEME. A avaliação *in silico* mostrou que pequenas modificações estruturais influenciam as interações com a enzima NMT (*N-Myristoyltransferase*). Entre os seis metabólitos analisados, ajmalicina e ácido ioimbínico apresentaram interações mais favoráveis com resíduos-chave do sítio ativo. Estes achados sugerem que *A. excelsum* é uma fonte relevante de antioxidantes naturais e compostos antileishmania, abrindo caminho para estudos futuros de isolamento, caracterização e avaliação da eficácia em modelos experimentais avançados.

Palavras-chave: *Aspidosperma excelsum*; leishmaniose cutânea; atividade antioxidante; alcaloides indólicos; produtos naturais.

ABSTRACT

Neglected Tropical Diseases (NTDs) affect more than 1 billion people, primarily in vulnerable populations, causing significant social and economic impacts. Leishmaniasis stands out among these diseases due to therapeutic limitations such as toxicity, high cost, and increasing resistance. In this context, Amazonian biodiversity emerges as a promising source of bioactive compounds. The genus Aspidosperma, traditionally used in the treatment of infectious diseases, is rich in indole alkaloids with antimicrobial and antileishmanial properties. This study chemically characterized the bark extracts of *Aspidosperma excelsum* Benth. and evaluated their antioxidant and antileishmanial activities against *Leishmania* (*Viannia*) *guyanensis*. ESI-MS analysis identified various indole alkaloids, such as reserpiline, yohimbine, ajmalicine, 11-methoxy-yohimbine, yohimbinic acid, corinantheidol, and quinic acid, distributed distinctly among the extracts. The AEME extract showed the highest antioxidant activity in all assays (DPPH•, ABTS•+, FRAP), while AEAC stood out in the ABTS•+ and FRAP tests. Regarding antileishmanial activity, AEAC presented IC_{50} values of 26.8 µg/mL (24 h) and 24.6 µg/mL (48 h), being the most promising, followed by AEME. *In silico* evaluation showed that small structural modifications influence interactions with the enzyme NMT (*N-Myristoyltransferase*). Among the six metabolites analyzed, ajmalicine and yohimbinic acid exhibited the most favorable interactions with key residues of the active site. These findings suggest that *A. excelsum* is a relevant source of natural antioxidants and antileishmanial compounds, paving the way for future studies on isolation, characterization, and efficacy evaluation in advanced experimental models.

Keywords: *Aspidosperma excelsum*; cutaneous leishmaniasis; antioxidant activity; indole alkaloids; natural products.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Ciclo biológico de protozoários do gênero *Leishamania* sp…….....1

Figura 2: Núcleo indol característico dos Alcaloides indólicos.....23

Figura 3: Substâncias isoladas de *Aspidosperma* com atividades biológicas comprovadas.24

Figura 4: Carapanaúba a) Tronco de Carapanaúba; b) Carapanaúba, vista da árvore……..28

Figura 5: Localização da Feira onde Foram Obtidas as Amostras.....32

Figura 6: Esquema de obtenção dos extratos de diferentes polaridades……...……. 34

Figura 7: Esquema de análise da espectrometria de massas (APCI e ESI).....35

Figura 8: Esquema de análise do método FRAP……..…….....….36

Figura 9: Esquema de análise do método de DPPH•……37

Figura 10: Esquema de análise do método de ABT•+ ……..……...….37

Figura 11: Esquema de análise da determinação de fenóis totais…….....….....38

Figura 12: Esquema metodológico da determinação de atividade antileishmania……..….40

Figura 13: Proposta de Fragmentação do íon *m/z* 355.....43

Figura 14: Proposta de Fragmentação do íon *m/z* 299.....44

Figura 15: Proposta de Fragmentação do íon *m/z* 353.....45

Figura 16: Proposta de Fragmentação do íon *m/z* 383.....46

Figura 17: Proposta de Fragmentação íon *m/z* 341.....47

Figura 18: Proposta de Fragmentação íon *m/z* 385.....48

Figura 19: Proposta de Fragmentação íon *m/z* 385.....49

Figura 20: Proposta de Fragmentação íon *m/z* 385.....50

Figura 21 Proposta de Fragmentação íon *m/z* 385.....59

Figura 22: Proposta de Fragmentação íon *m/z* 385.....75

Figura 23: Proposta de Fragmentação íon *m/z* 385.....75

Figura 24: Proposta de Fragmentação íon *m/z* 385.....76

Figura 25: Proposta de Fragmentação íon *m/z* 385.....76

Figura 26: Proposta de Fragmentação íon *m/z* 385.....77

Figura 27: Proposta de Fragmentação íon *m/z* 385.....77

Figura 28. Proposta de Fragmentação íon *m/z* 385.....78

Figura 29: Proposta de Fragmentação íon *m/z* 385.....78

Figura 30: Proposta de Fragmentação íon *m/z* 385.....79

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Atividade antileishmania AEHX.....54

Gráfico 2: Atividade antileishmania AEDC.....54

Gráfico 3: Atividade antileishmania AEAC.....55

Gráfico 4: Atividade antileishmania AEME.....56

Gráfico 5: Atividade antileishmania Extrato Aquoso.....59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Terapias para Leishmanioses disponíveis nas diretrizes da OPAS..

Tabela 2. Substâncias com atividades biológicas de Espécies de Aspidosperma

Tabela 3. Alcaloides Isolados de *Aspidosperma excelsum* Benth

Tabela 4. Codificação e Rendimento dos Extratos

Tabela 5. Substâncias identificadas por ESI-MS

Tabela 6. Potencial Antioxidante e Teor de Fenólicos Totais dos extratos

Tabela 7. Teste de atividade leishmanicida dos extratos de *Aspidosperma excelsum* Benth

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....13
1.1 Doenças Tropicais Negligenciadas.....13
1.2 Leishmanioses.....14
2. REVISÃO DA LITERATURA.....17
2.1 Leishmaniose Tegumentar…….....17
2.2 Ciclo biológico da *Leishmania ssp*.....17
2.3 Tratamento e manejo clínico.....18
2.4 Família Apocynaceae.....21
2.5 Gênero *Aspidosperma*.....23
2.6 *Aspidosperma excelsum* Benth.....27
3. OBJETIVOS.....31
3.1 Objetivo Geral.....31
3.2 Objetivos Específicos.....31
4. METODOLOGIA.....32
4.1 Coleta do Material Botânico.....32
4.2 Preparo dos Extratos Orgânicos.....32
4.3 Preparo da Infusão.....33
4.4 Espectrometria de Massas dos Extratos Hexânico, Diclorometânico, Acetato de Etila e Metanólico.....34
4.5 Espectrometria de Massas dos Extratos da infusão das cascas de *A. excelsum* Benth.....34
4.6 Testes da Capacidade Antioxidantes e Fenóis Totais.....35
4.6.1 Atividade Antioxidante pelo Método de DPPH•.....35
4.6.2 Atividade Antioxidante pelo Método ABTS•+.....36
4.6.3 Determinação do Teor de Fenólicos Totais.....37
4.7 Avaliação da atividade antiparasitária das amostras obtidas frente às formas promastigotas e amastigotas de *Leishmania* (*Viannia*) guyanensis.....37
4.7.1 Manutenção dos Parasitas e Preparo de Massa Parasitária.....37
4.7.2 Determinação da Atividade antileishmania e Concentração inibitória 50% (IC_{50}) das Amostras Químicas.....37
4.8 Docking molecular……39
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....40
5.1 Rendimento dos Extratos.....40
5.2 Identificação do Perfil Químico por Espectrometria de Massas.....41
5.2.1 Substâncias Encontradas no Extrato Diclorometânico de *Aspidosperma excelsum* Benth.....42
5.2.2 Substâncias Encontradas no Extrato Acetato de Etila de *Aspidosperma excelsum* Benth.....43
5.2.3 Substâncias Encontradas no Extrato Metanólico de *Aspidosperma excelsum* Benth.....45
5.2.4 Substâncias Encontradas no Extrato aquoso de *Aspidosperma excelsum* Benth.....49

5.3 Avaliação do Potencial Antioxidante.....50
5.4 Atividade Antileishmania.....53
5.5 Hipóteses do mecanismo de ação……57
6. CONCLUSÕES.....62
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....64
APÊNDICE.....74

1. INTRODUÇÃO

1.1 Doenças Tropicais Negligenciadas

As Doenças Tropicais Negligenciadas (DTNs) constituem um conjunto heterogêneo de enfermidades de origem parasitária, bacteriana, viral e fúngica (WHO, 2024). O termo foi proposto com o propósito de estimular o engajamento político, ampliar o financiamento e fomentar a pesquisa e o desenvolvimento voltados ao enfrentamento dessas doenças infecciosas, historicamente marcadas pela ausência de investimentos adequados (Hotez, 2007; Brasil, 2010; Werneck *et al*. 2011).

Apesar dos avanços obtidos nas últimas décadas, as DTNs ainda recebem recursos limitados e permanecem em grande parte negligenciadas pelas principais agências de financiamento globais. Entre os fatores que contribuem para essa situação estão a associação dessas enfermidades à pobreza, o isolamento geográfico das populações mais atingidas, a estigmatização social, a escassez de dados epidemiológicos consistentes, bem como a insuficiência de vontade política e de recursos financeiros destinados ao seu controle (Ca *et al*., 2024). Entre 2010 e 2022, houve uma diminuição de aproximadamente 32% no contingente populacional que requer cuidados relacionados às DTNs; entretanto, esse número ainda representa uma carga elevada para os sistemas de saúde pública e para as populações afetadas (United Nations, 2025).

Entre as DTNs prioritárias reconhecidas pelo Ministério da Saúde e pelo Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação (MCTI), destacam-se Doença de Chagas, Leishmanioses e Malária, responsáveis, em conjunto, por mais de 3 milhões de mortes anuais nos países em desenvolvimento (Fournet; Muñoz, 2002). Nesse contexto, torna-se imperativa a busca por estratégias inovadoras, com ênfase em pesquisa, desenvolvimento e inovação (PDI), para ampliação das opções terapêuticas e melhoria da qualidade de vida das populações afetadas. Nesse sentido, a pesquisa com produtos naturais, especialmente aqueles derivados de plantas medicinais, representa uma importante estratégia na descoberta de compostos bioativos com potencial aplicação no tratamento dessas enfermidades.

A utilização de plantas com fins medicinais no Brasil tem suas bases na prática indígena, que, com o passar dos anos, foi influenciada por diferentes grupos étnicos. Esses contribuíram significativamente para o desenvolvimento da pesquisa em produtos naturais, para o aprofundamento do conhecimento sobre a relação entre a estrutura química dos compostos e suas propriedades biológicas, bem como para a compreensão das interações animais/insetos-planta (Santos, 2000; Viegas Junior; Bolzani; Barreiro,

2006). Essa perspectiva não apenas favorece a geração de alternativas terapêuticas mais eficazes e seguras, como também contribui para o desenvolvimento sustentável e para a valorização dos recursos naturais nacionais (Bolzani, 2016; Hansenclever *et al*., 2017).

Diante do uso cada vez mais frequente, e muitas vezes inadequado, de plantas medicinais pela população — que tende a associá-las a medicamentos sintéticos sem conhecer seus reais benefícios, riscos ou contraindicações — o Ministério da Saúde instituiu, por meio do Decreto Presidencial nº 5.813, de 22 de junho de 2006, a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF). Essa iniciativa busca orientar os profissionais de saúde e assegurar o uso seguro e eficaz dessas terapias, conforme as diretrizes estabelecidas (Oliveira; Silva, 2023).

Portanto, o desenvolvimento de alternativas terapêuticas inovadoras e seguras representa um desafio científico, tecnológico e social de grande relevância. A integração entre ciência, biodiversidade e inovação farmacêutica configura uma oportunidade estratégica para o controle dessas enfermidades, especialmente no contexto brasileiro, em que a Amazônia desponta como um importante reservatório de recursos naturais com potencial farmacológico.

1.2 Leishmanioses

As Leishmanioses são um grupo de doenças infecciosas causadas por protozoários do gênero *Leishmania*, é um complexo de doenças com importante espectro clínico e diversidade epidemiológica transmitida por vetores ao hospedeiro humano (Chang *et al*., 1985; Brasil, 2007). A transmissão para os seres humanos ocorre por meio da picada de fêmeas de flebotomíneos infectadas pelo parasita (Zhang., 2020).

Diversas espécies de *Leishmania* podem induzir lesões de severidade variável, com a possibilidade de formação de metástases. No continente americano, as formas predominantes de ocorrência — e, em linhas gerais, as únicas registradas — são a Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) e a Leishmaniose Visceral (LV), (Volpedo *et al*., 2021).

A leishmaniose é considerada uma antropozoonose por apresentar um hospedeiro invertebrado, flebotomíneos, conhecido popularmente como mosquito da palha, o qual é responsável pela transmissão das formas promastigotas à animais silvestres e domésticos, assim como a humanos. No hospedeiro vertebrado, a forma promastigota é fagocitada pelos macrófagos, onde se transforma na forma amastigota e desta forma propaga a infecção (Rey., 2002; Mochaligk., 2003; Camargo., 2008; Brasail., 2014).

A leishmaniose é considerada um importante problema de saúde pública,

sobretudo por se tratar de uma doença negligenciada que atinge populações em situação de pobreza e recebe baixos investimentos em pesquisa e desenvolvimento (Reddy, *et al*., 2007; Castro, 2012; Brasil, 2017). Estima-se que entre 700 mil e 1 milhão de novos casos ocorram anualmente em todo o mundo, com mais de 1 bilhão de pessoas vivendo em áreas endêmicas para leishmaniose, estando em risco de infecção, e que entre 50 000 e 90 000 novos casos de leishmaniose visceral ocorram a cada ano no mundo (Who, 2024).

No Brasil, os registros oficiais indicam uma média anual de cerca de 21.000 casos entre as formas clínicas da doença nos últimos cinco anos, com incidência aproximada de 8,6 casos por 100.000 habitantes; entre 2007 e 2023 foram notificados 472.790 casos, resultando em média anual de ~27.800 casos para o período (Ministério da Saúde, 2025).

No Estado do Amazonas, foram notificados 1.294 casos de leishmaniose tegumentar em 2023 (FUHAM, 2023) e, no triênio 2022-2024, um total de 2.897 casos (2022: 885; 2023: 1.376; 2024: 636) (Estudo Amazonas, 2025). No Estado do Pará, a leishmaniose visceral mostrou elevada incidência entre 2011-2022, sendo esse estado um dos principais focos regionais (Pará, 2025). Na região das Américas, a OPAS registra 1.178.436 casos de leishmaniose cutânea/mucosa entre 2001-2023 (média ~51.236/ano) e 73.092 casos de leishmaniose visceral no mesmo período (média ~3.178/ano) (OPAS, 2023).

Os tratamentos convencionais, embora ainda constituam as principais ferramentas terapêuticas, apresentam limitações importantes, tais como efeitos adversos significativos, complexidade posológica e relatos de resistência parasitária a medicamentos antileishmania estabelecidos, o que ressalta a necessidade de novas opções terapêuticas (Bapela; Kaiser; Meyer, 2017). Nesse contexto, a prospecção de produtos naturais oferece uma via promissora: a medicina popular e estudos farmacognósticos têm indicado a presença, em inúmeras espécies vegetais, de metabólitos secundários (alcaloides, terpenos, flavonoides, lactonas sesquiterpênicas etc.) com atividade in vitro e in vivo contra *Leishmania* (Iwu *et al*., 1994; Queiroz *et al*., 1996; Torres-Santos, 1999; Rocha *et al*., 2005).

Além da atividade antiparasitária direta, compostos com propriedades antioxidantes (por exemplo flavonoides e cumarinas) podem atenuar o estresse oxidativo associado à resposta inflamatória do hospedeiro, representando potenciais agentes

adjuvantes na proteção tecidual e na modulação da patogênese; entretanto, tais efeitos devem ser interpretados com cautela e validados experimental e clinicamente (Rocha *et al*., 2015; Pereira, 1996).

Desta forma, o presente estudo teve como objetivo analisar o perfil químico dos extratos obtidos das cascas de *Aspidosperma excelsum* Benth. e investigar o potencial farmacológico desta espécie frente à *Leishmania* spp., com ênfase nas atividades antileishmania e antioxidante. A pesquisa busca identificar metabólitos secundários com ação sobre alvos estratégicos do parasita, como a enzima N-myristoyltransferase (NMT), envolvida em processos essenciais de crescimento e sobrevivência do protozoário. A caracterização química dos extratos e a avaliação biológica dos compostos visam contribuir para a prospecção de novas moléculas bioativas, capazes de atuar de forma seletiva e menos tóxica, oferecendo perspectivas promissoras para o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos no combate às doenças tropicais negligenciadas.

A N-myristoyltransferase (NMT) é uma enzima essencial responsável pela N-miristoilação de proteínas — um processo pós-traducional no qual ocorre a adição de um grupo miristoil ($C_{14:0}$) à extremidade amino-terminal de proteínas específicas. Essa modificação é fundamental para a ancoragem de proteínas em membranas celulares e para a regulação de diversas vias metabólicas críticas do parasita. Em *Leishmania* spp., a NMT tem se destacado como um alvo molecular altamente conservado e vital, cuja inibição resulta em alterações significativas na viabilidade e na diferenciação das formas infectantes, tornando-a um foco estratégico para o desenvolvimento racional de fármacos antiparasitários.

Nesse contexto, espécies do gênero *Aspidosperma* têm sido amplamente investigadas devido à presença de alcaloides indólicos e outros metabólitos com reconhecida bioatividade, incluindo propriedades antiparasitárias e antioxidantes. Assim, a avaliação dos extratos de *A. excelsum* Benth. em relação ao potencial de inibição da enzima NMT e sua ação antileishmania representa uma abordagem inovadora e relevante, integrando a química de produtos naturais com a biologia molecular de alvos terapêuticos, e contribuindo para o avanço do conhecimento sobre compostos naturais como protótipos de novos agentes farmacológicos.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Leishmaniose Tegumentar

A Leishmaniose Tegumentar (LT) é uma das DTNs de grande relevância devido ao grande número de pessoas infectadas e complexidade dos níveis da evolução clínica dos pacientes (Brasil, 2017; Pigott *et al*., 2014). Sua transmissão ocorre de forma vetorial através da fêmea de flebotomíneos do gênero Lutzomyia infectada com o protozoário do gênero Leishmania (Brasil, 2017; Dostálová; Volf, 2012).

No estado do Amazonas, localizado na Amazônia Central, a leishmaniose tegumentar é endêmica e predominantemente zoonótica. Os parasitas são mantidos em animais silvestres e insetos vetores, sendo transmitidos por picadas de flebotomíneos infectados. Nessa região, as atividades econômicas humanas em áreas florestais, juntamente com o estabelecimento de assentamentos próximos a ecótipos florestais, contribuem significativamente para as condições favoráveis à transmissão (Guerra *et al*., 2015; Chagas *et al*., 2018). As taxas de transmissão são diretamente influenciadas por alterações na cobertura vegetal, particularmente o desmatamento, que consequentemente afeta o ciclo hidrológico, as emissões de carbono e o microclima da região (Rodrigues *et al*., 2019).

Das sete espécies de Leishmania encontradas no Brasil relacionadas à LTA, apenas quatro delas são encontradas no Estado do Amazonas, *L. amazonensis*, *L. braziliensis*, *L. naiffi* e *L. guyanensis*, sendo a última com maiores índices de prevalência (Camara *et al*., 2010). A Leishmaniose Tegumentar Americana continua sendo uma preocupação significativa, com 7.499 casos registrados entre 2016 e 2020, correspondendo a uma taxa média de 7,34 casos por 100.000 habitantes-ano (Souza *et al*., 2024). Em 2022, no Amazonas, foram notificados 298 casos de LTA. Entre os municípios com maior notificação estão: Itacoatiara (46), Rio Preto da Eva (38), Manaus (34), Boca do Acre (21) e Humaitá (17). Em 2021, foram notificados 1.115 casos da doença.

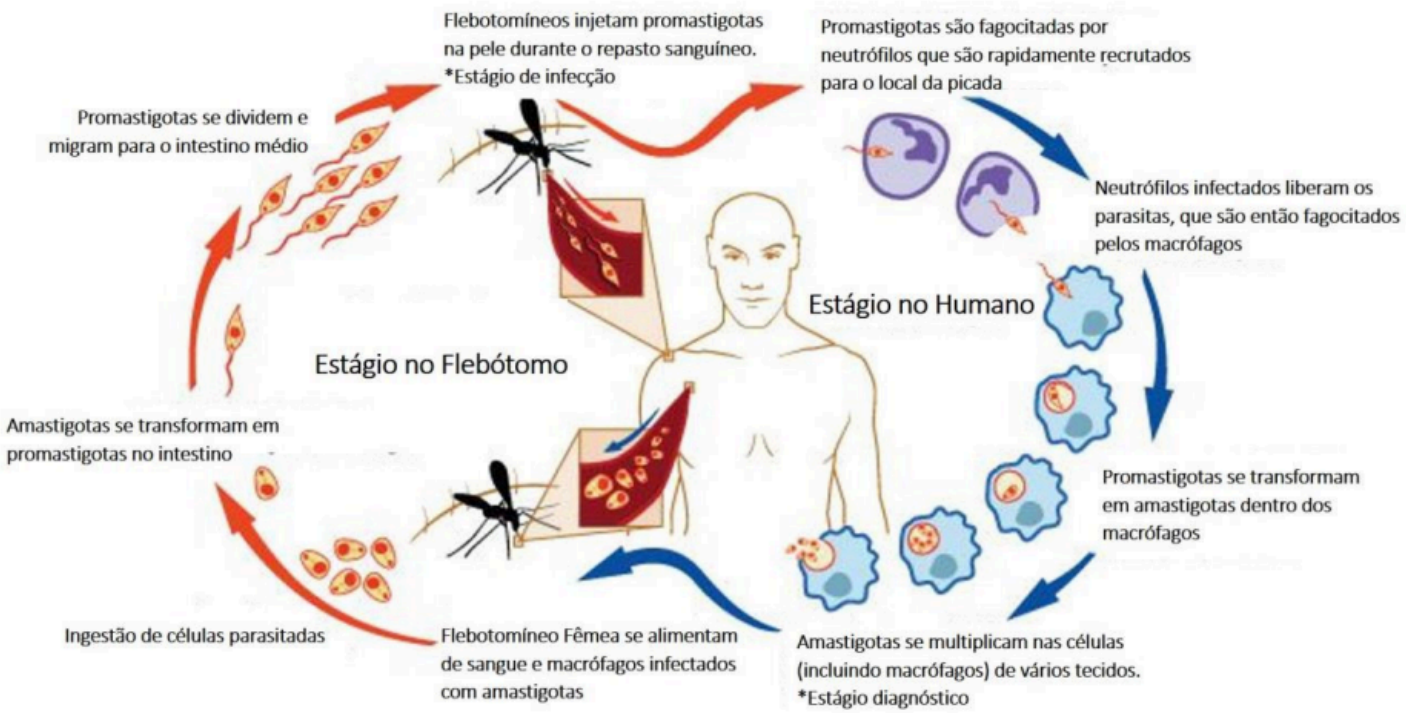
2.2 Ciclo biológico da *Leishmania ssp.*

O ciclo biológico dos protozoários do gênero *Leishmania* causadores da doença é do tipo digenético ou heteroxênico. O ciclo inicia-se quando fêmeas de flebotomíneos infectadas realizam o repasto sanguíneo e inoculam formas promastigotas metacíclicas na pele do hospedeiro vertebrado, juntamente com a saliva. Estima-se que entre 10 e 100 parasitos sejam introduzidos, os quais são fagocitados por células mononucleares,

incluindo macrófagos, além de células dendríticas e neutrófilos (Rottig; Bogdan, 2000; Schlein, 1993).

Dentro dessas células, os promastigotas diferenciam-se em amastigotas, que se multiplicam por divisão binária até romperem a célula hospedeira e invadirem novas células. Quando outro flebotomíneo ingere sangue infectado, ele ingere também as amastigotas, que se transformam novamente em promastigotas no intestino do vetor. Após passarem por estágios intermediários e pela metaciclogênese, migram para a região anterior do aparelho digestivo, tornando-se infectantes e capazes de reiniciar o ciclo durante um novo repasto (Lainson; Shaw, 1978; Lipoldová; Demanat, 2006) conforme apresentado na figura 1.

Figura 1: Ciclo biológico de protozoários do gênero *Leishamania* sp.



Fonte: JENSEN B. B, 2020

2.3 Tratamento e manejo clínico

A leishmaniose tegumentar apresenta diferentes manifestações clínicas — cutânea, mucosa ou disseminada —, que requerem condutas terapêuticas específicas conforme a espécie envolvida, a gravidade clínica e as condições do paciente. O tratamento visa eliminar o parasita e prevenir complicações funcionais e estéticas, sendo a escolha do fármaco baseada na resposta terapêutica, toxicidade e perfil de resistência (Paho, 2022; Brasil, 2023).

O tratamento padrão continua sendo realizado com antimoniais pentavalentes, como o antimoniato de meglumina (Glucantime®), utilizado há décadas, embora associado a efeitos adversos como náuseas, mialgia, hepatotoxicidade e cardiotoxicidade (Carvalho *et al*., 2019; Nassif *et al*., 2017). Entretanto, alternativas farmacológicas têm sido incorporadas para otimizar a eficácia e reduzir a toxicidade.

Em 2018, o Ministério da Saúde incorporou a miltefosina como opção terapêutica de primeira linha no SUS, conforme a Portaria nº 56/2018, posteriormente incluída na RENAME 2020 e 2024, ampliando as opções disponíveis no tratamento da leishmaniose tegumentar (Brasil, 2024).

De acordo com as diretrizes da OPAS (2022), as terapias disponíveis estão resumidas na Tabela 1, que apresenta as principais drogas, doses e indicações atualmente recomendadas para o tratamento da doença no Brasil e nas Américas.

Tabela 1. Terapias para Leishmanioses disponíveis nas diretrizes da OPAS.

Medicamento	Apresentação / Via	Dose recomendada	Duração média	Indicação principal	Referência
Antimoniato de meglumina (Glucantime®)	81 mg Sb^{5+}/mL – IM ou IV	10–20 mg Sb^{5+}/kg/dia (máx. 3 ampolas/dia)	20 dias (cutânea); 30 dias (mucosa)	Primeira escolha para LT localizada ou cutâneo-mucosa	PAHO, 2022; MS, 2023
Anfotericina B deoxicolato	IV	0,7–1,0 mg/kg/dia	20 a 30 dias	Casos graves, falha ou contraindicação aos antimoniais	PAHO, 2022
Anfotericina B lipossomal	IV	3 mg/kg/dia (dias alternados) até dose total de 18–21 mg/kg	Variável conforme resposta	Pacientes com comorbidades, LT mucosa, idosos ou gestantes	PAHO, 2022
Miltefosina	Cápsulas orais 50 mg	2,5 mg/kg/dia (máx. 150 mg/dia), em 2–3 doses	28 dias	Alternativa oral eficaz em L. braziliensis e L. panamensis; LT cutânea e mucosa	PAHO, 2022; MACHADO et al., 2021
Antimonial intralesional	Infiltração local	Volume suficiente para saturar a lesão	1–2 sessões/semana por 4–6 semanas	Lesões únicas e pequenas; menor toxicidade	PAHO, 2022
Termoterapia	Aplicação local (≈ 50 °C, 30 s)	Sessão única ou repetida após 1 semana	1–2 sessões	LT cutânea localizada, sem risco de forma mucosa	PAHO, 2023

O tratamento da leishmaniose tegumentar (LT) baseia-se, historicamente, na administração de antimoniais pentavalentes, como o antimoniato de meglumina

(Glucantime®), amplamente utilizado como primeira escolha terapêutica. Apesar da eficácia comprovada em muitos casos, esse medicamento gera efeitos adversos significativos — entre os quais náuseas, vômitos, fraqueza, mialgia, hepatotoxicidade, cardiotoxicidade, pancreatite e nefrotoxicidade — e demanda acompanhamento especializado (Nassif *et al*., 2017; Paho, 2022).

Em casos de falha terapêutica, da presença de formas complicadas ou da necessidade de alternativas menos tóxicas, são consideradas opções como a anfotericina B (preferencialmente em formulação lipossomal) e terapias com via oral, como a miltefosina. Embora sua adoção no Brasil ainda seja seletiva, ha-se mostrado eficácia em estudos clínicos para LT causada por Leishmania braziliensis e outras espécies (Machado *et al*., 2021). A via oral facilita adesão, especialmente em regiões de difícil acesso.

As diretrizes da PAHO/WHO (2022) também recomendam terapias locais — como infiltração intralesional de antimoniais ou termoterapia — para lesões cutâneas localizadas e de menor risco de progressão, como forma de minimizar toxicidade e custos (Paho, 2022; Paho, 2023).

É importante destacar que o regime terapêutico varia conforme a espécie de Leishmania, a apresentação clínica (número, volume, localização das lesões), o risco de evolução para a forma mucosa e as condições do paciente. Essas variáveis exigem personalização do tratamento e reforçam a necessidade de monitoramento da resposta terapêutica e da toxicidade (Paho, 2022).

Apesar da disponibilidade dessas opções, os desafios persistem: a toxicidade dos fármacos atuais, a necessidade de administração parenteral ou hospitalar em muitos casos, os custos elevados e a evidência de menor eficácia ou resistência parasitária em alguns contextos geográficos (Bharadava *et al*., 2024). Essas lacunas justificam a contínua busca por novas terapias mais seguras, eficazes e adaptadas aos diferentes cenários epidemiológicos.

Embora os medicamentos preconizados pelo Ministério da saúde mostrem eficácia relativa para o tratamento da Leishmaniose tegumentar, o seu custo é bem expressivo e, às vezes, dificulta o acesso para os enfermos. Muitos precisam buscar 35 o recurso do Sistema Único de Saúde, onde esses medicamentos convencionais estão na Relação Nacional de Medicamentos Essenciais - RENAME (ANVISA, 2020; Nagle *et al*., 2014). Esses fatores estimulam a busca de alternativas terapêuticas para um tratamento da leishmaniose com melhor eficácia e custo mais acessível.

Os produtos naturais derivados de plantas medicinais têm sido de grande interesse na busca de novos medicamentos com atividade antileishmania. Este interesse pode ser atribuído à identificação potencial das estruturas químicas, e às propriedades muitas vezes inerentes às moléculas já isoladas. Nas últimas décadas, 69% de todos os novos fármacos para o tratamento de doenças infecciosas foram derivados ou baseados em produtos naturais (Nagle *et al*., 2014).

Inúmeros compostos químicos, isolados de extratos vegetais, tem demonstrado atividade antileishmania sobre as formas promastigotas e amastigotas de Leishmania em ensaios biológicos in vitro. Já foram descritas atividade antileishmania dos grupos químicos, como terpenóides (Camacho *et al*., 2001; Kennedy *et al*., 2011; Oketch-Rabah *et al*., 1997), aminoglicosteróides e aminosteróides (Kam *et al*., 1998), naftoquinonas (Kayser *et al*., 2000), chalconas (Boeck *et al*., 2006; Christensen *et al*., 1994), glicosídios iridóides (Mittal *et al*., 1998), flavonóides (Araujo; Alegrio; Leon, 1998), neolignanas (Barata *et al*., 2000) e de alcalóides (Dolorenzi *et al*., 2002; Ferreira *et al*., 2002; Kam *et al*., 1999).

Dentre as espécies vegetais utilizadas na fitoterapia popular estão as pertencentes ao gênero *Aspidosperma*, cujas cascas são usadas comumente na região amazônica, sob a forma de infusões e chás (Pereira *et al*., 2007), sendo muitas delas conhecidas popularmente como perobas, guatambus, pau-pereiro, amargoso, quina e carapanaúba.

Existe uma grande variedade de substâncias químicas existentes nesta espécie, responsáveis pelas atividades farmacológicas associadas: ação hipotensora, sedativa, cardiotônica, antimicrobiana, antitumoral, anti-térmica e contra disfunção erétil (Almeida *et al*., 2019; Furtado *et al*., 2017; Aráujo., 2022).

2.4 Família Apocynaceae

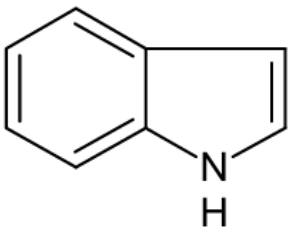
A família Apocynaceae é uma das mais representativas entre as angiospermas, com ampla distribuição em diversos biomas brasileiros, incluindo Amazônia, Cerrado, Mata Atlântica, Caatinga, Pantanal e Pampas, o que evidencia sua adaptabilidade a diferentes condições ecológicas (Scarano *et al*., 2012; Silva *et al*., 2023). Estudos mais recentes estimam que essa família compreende aproximadamente 5.747 espécies distribuídas em 392 gêneros no mundo, das quais cerca de 850 espécies em 90 gêneros ocorrem no Brasil (Endress *et al*., 2018; Barroso *et al*., 2020). Essa diversidade coloca a Apocynaceae entre as famílias botânicas de maior relevância na flora nacional.

Segundo levantamentos sobre as famílias de angiospermas mais ricas em espécies no Brasil, a Apocynaceae ocupava a 10ª posição em diversidade em 2010, sendo posteriormente ultrapassada pela família Malvaceae em 2015, mantendo-se, contudo, entre as famílias mais diversas do país (Forzza *et al*., 2015). Dessa forma, atualmente, a Apocynaceae pode ser considerada a 11ª família vegetal mais rica em espécies do Brasil.

Do ponto de vista químico, as espécies pertencentes à Apocynaceae apresentam uma composição rica em metabólitos secundários, destacando-se alcaloides indólicos, glicosídeos cardíacos, terpenoides, flavonoides e esteróides, os quais têm sido objeto de intensas pesquisas farmacológicas (Bolzani *et al.*, 2022; Santos *et al*., 2023). Esses compostos são associados a uma ampla gama de atividades biológicas, incluindo propriedades anticâncer, anti-inflamatórias, antileishmania, antitrypanosoma, antidiabéticas, antioxidantes e cardioprotetoras, características que reforçam a importância da família como fonte promissora de moléculas bioativas (Ribeiro *et al*., 2021; Souza *et al*., 2024).

A abundância de metabólitos secundários nas Apocynaceae, como iridoides, glicosideos cardioativos e alcaloides, principalmente os alcaloides indólicos (Figura 2), substâncias derivadas do metabolismo do aminoácido triptofano, que apresentam o cromóforo indol ou seus derivados indolina, indolenina, hidroxiindolenina, α-metilindolenina, pseudoindoxila, oxindol, carbazol, β-carbolina, γ-carbolina (Lopes., 2008; APG IV., 2016). tornando essa família uma das mais importantes fontes de compostos bioativos com aplicação na medicina moderna (Schripsema et al., 2004). Essa grande diversidade de substâncias tem sido isolada de espécies pertencentes a essa família, muitas das quais são usadas como referência para o desenvolvimento de novas drogas e, consequentemente, fazem parte da história da farmacologia e da terapêutica (Lopes, 2019).

Figura 2 - Núcleo indol característico dos Alcaloides indólicos



Fonte: Autora, 2025

Além disso, estudos recentes apontam espécies dessa família como potenciais candidatas ao desenvolvimento de novos fármacos antimaláricos e antiparasitários, uma vez que alcaloides isolados de gêneros como *Aspidosperma* e *Geissospermum* apresentaram atividade significativa contra *Plasmodium* spp. e *Leishmania* spp., inclusive em ensaios *in vitro* (Carneiro *et al*., 2023; Henriques *et al.*, 2023). Essa relevância farmacológica reforça a necessidade de estudos químicos e biológicos aprofundados para validar usos tradicionais e identificar compostos com potencial terapêutico.

O uso popular de espécies da Apocynaceae na medicina tradicional brasileira remonta à época colonial e persiste em comunidades rurais e amazônicas, especialmente no tratamento de febres, bronquites, inflamações uterinas, distúrbios hepáticos e renais, diabetes, leishmaniose e malária (Firmo *et al*., 2011; Duke; Vásquez, 1994; Hidalgo, 2003). Entretanto, apesar da longa tradição de uso, poucas espécies possuem estudos toxicológicos e clínicos robustos, o que reforça a importância de pesquisas voltadas para a comprovação da eficácia e segurança dessas plantas.

Dessa forma, a Apocynaceae ocupa um papel central tanto na etnobotânica quanto na química de produtos naturais, servindo como importante modelo para estudos de prospecção farmacológica. A investigação científica desta família contribui não apenas para a validação do conhecimento tradicional, mas também para o desenvolvimento de novos compostos com potencial terapêutico contra doenças tropicais negligenciadas e enfermidades crônicas.

2.5 Gênero *Aspidosperma*

Espécies do gênero *Aspidosperma*, família Apocynaceae, são encontradas apenas nas Américas (Lorenzi., 1998), principalmente na Argentina, Brasil, Bolívia,

México, Paraguai e Peru (Woodson., 1951). No Brasil foram catalogadas cerca de 52 espécies desse gênero, praticamente distribuídas em todos os ecossistemas (Corrêa., 1931), tais como, caatinga, cerrado e florestas (Amorim *et al*., 2005).

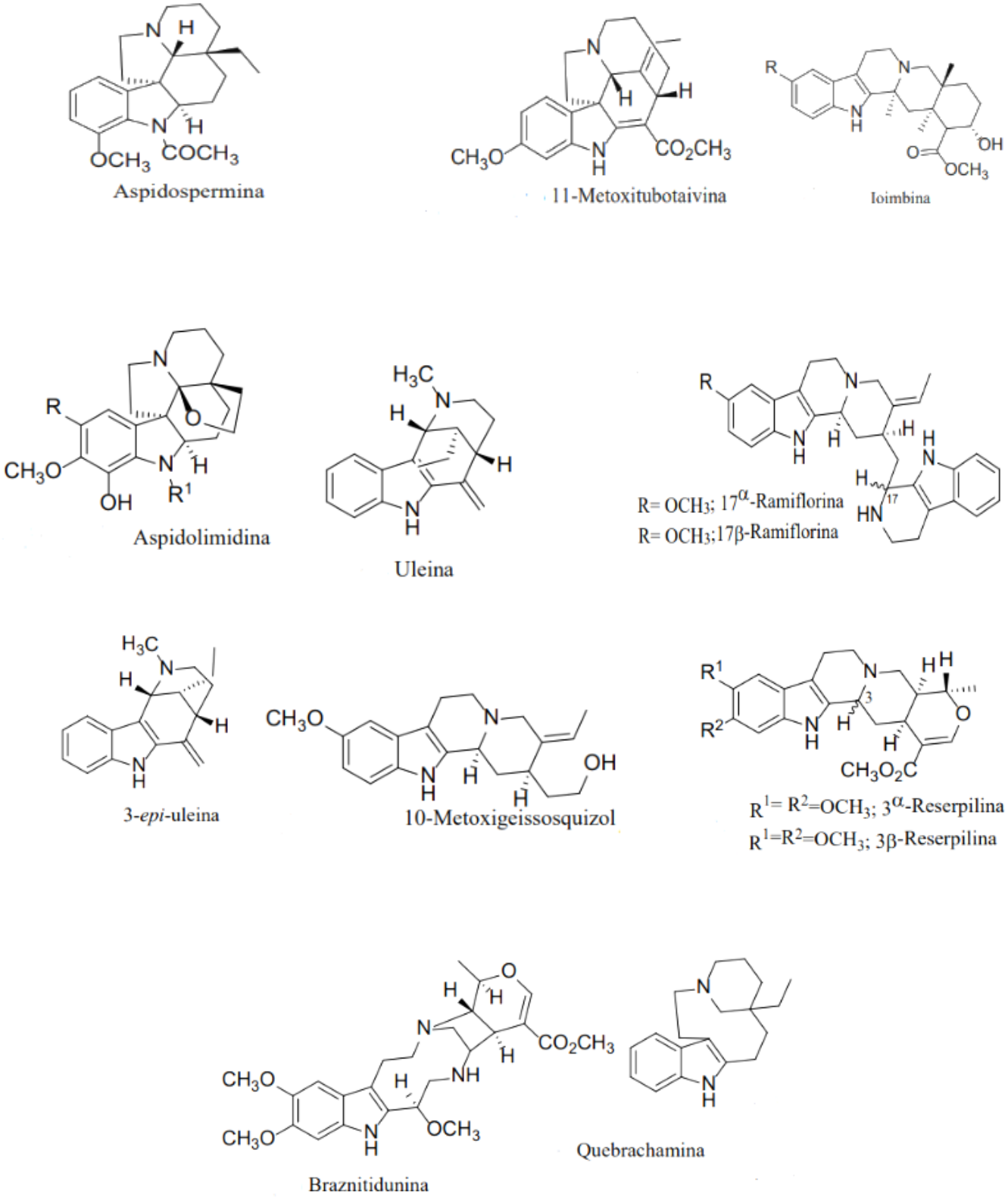
Atualmente no Brasil, são reconhecidas 68 espécies do gênero *Aspidosperma*, as quais são chamadas como perobas, guatambus, pau-pereiro, caparanaúba, pequiá, quina, taroba e amargoso. Essas espécies estão distribuídas pelas cinco regiões, encontradas em vegetações da Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica, Pampa e Pantanal (Lorenzi, 1998; Castello; Pereira; Simões, Koch, 2024).

Gilbert., (1966) estudou 33 espécies de Aspidospermas de ocorrência no Brasil, o que resultou no isolamento de mais de 100 alcalóides indólicos, e levou à conclusão da predominância desta classe de alcalóides como sendo majoritárias neste gênero. Especificamente foi observada a ocorrência de alcalóides indólicos com uma grande variedade estrutural, dos quais, muitos deles contendo esqueleto β-carbonílico simples, sistemas tricíclicos de anéis pirido-indólicos (Allen, Holmstedt., 1980).

Em sua grande maioria os alcalóides isolados desse gênero possuem atividades biológicas tais como antitumoral, antituberculose, antimicrobiana, antiprotozoários como anti-tripanossoma, anti-plasmódico e antiteishmania. Cerca de 20% das espécies de plantas conhecidas acumulam alcalóides, com maior frequência nas Dicotiledôneas (Luca; Laflamme., 2001). Essas substâncias podem ser encontradas em diferentes partes do vegetal (Sottomayor *et al*., 2004), e em representantes de diversas famílias (Lorence; Nessler, 2004). Essa classe de substâncias do metabolismo secundário é famosa pela acentuada ação sobre o sistema nervoso central, sendo muitos deles utilizados como venenos ou alucinógenos (Luca; Pierre., 2000).

As cascas de várias espécies de *Aspidospermas* são utilizadas por nativos (índios, caboclos e ribeirinhos) de diferentes locais da Amazônia para o tratamento de malária (Boudy *et al*.,2014; Brandão *et al*., 1992). Essa importância tem motivado estudos científicos para explorar a correlação entre suas propriedades terapêuticas e a presença de alcalóides indólicos conforme apresentado na Figura 3.

Figura 3: Substâncias isoladas de *Aspidosperma* com atividades biológicas comprovadas.



Fonte: A autora., (2025) feito no ChemDraw (22).

Esses compostos apresentam diversas atividades biológicas, como ações antitumoral, antimicrobiana, antituberculose e antiprotozoária, incluindo atividades antitripanossoma, antiplasmódica e, destacadamente, antileishmania Tabela 2. A relevância dessas propriedades, em especial a ação antileishmania, tem impulsionado pesquisas mais aprofundadas sobre o gênero *Aspidosperma*.

Tabela 2: Substâncias com atividades biológicas de Espécies de *Aspidosperma*.

Espécie	Substâncias testadas	Aplicação	Referências
A. ramiflorum	Ramiflorinas α e β, 10-metoxigeissosquizol, 16(S)-E-isositsiriquina, 16(R)-E-isositsiriquina, 16(S)-Z-isositsiriquina	Atividade contra leishmaniose, baixa citotoxicidade (HepG2); atividade antiplasmódica	Frederich *et al*., (2002) Cunha *et al*., (2012) Aguiar *et al*., (2015)
A. ulei	Ioimbina 1,2-diidro-olivacina, 1,2-diidroelipticina, N-metil tetraidroelipticina, (D)-guatambuína e Uleína	Atividade contra *M. tuberculosis* (tuberculose), atividade citotóxica	Itoh *et al*., (2018); Schmidt *et al*., (2018)
A. subicanum	N-metil tetraidroelipticina, uleína, 3-epi-dasicarpidona, 3-epi-uleína	Suplemento alimentar para pacientes com HIV	Maes; Maes., (2015)
A. excelsum	Ioimbina, N-acetilaspidospermidina, 3-epi-dasicarpidona, 9-metoxi-16R-E-isositsiri quina, 11-Metoxi-tubotaivina, Ochrolifuanina A, Reserpinina, Reserpilina, Aspidoscarpina, Aspidolimidina	Atividade antimicrobiana frente o crescimento de *Bacillus subtilis*. Toxicidade para larvas de *Artemia franciscana*. Atividade antimicrobiana frente *P. aeruginosa, E. coli, C. albicans* e *A. niger*	Frederich *et al*., (2002), Verpoorte *et al*., (1982); Quignard *et al*., (2003); Dwivedi., *et al*., (2015)
A. quebracho blanco	Aspidospermina, Ioimbina	Antitumoral, inibição de adrenoreceptores α2C	Cai *et al*., (2017) (Patente); Hidenobu *et al*., (2018)
A. nitidum	Braznitidumina, Aspidospermina, Quebrachamina, Ioimbina	Atividade contra protozoários flagelados *Trypanossoma* spp. *Leishmania* spp, atividade antioxidante	Cai et al., (2017); Kreps et al., (2017)

Fonte: A autora., (2025).

Dentre as espécies botânicas bio produtoras de alcalóides pertencentes à família Apocynaceae, destaca-se a *Aspidosperma excelsum*, uma das várias espécies conhecidas como carapanaúba, frequentemente utilizada na forma de infusão das cascas na medicina tradicional da Região Amazônica. (Ribeiro *et al*., 1999). *A. excelsum* também possui atividade antimicrobiana contra *Escherichia coli* (Theodor Escherich), *Pseudomonas aeruginosa* (Schroeter), *Candida albicans* (Berkhout), *Aspergillus niger* (Van Tieghem), entre outros (Verpoorte *et al*., 1982; Verpoorte *et al*., 1983).

A existência das atividades antimalárica, antileishmania e tripanocida em derivados de espécies do gênero *Aspidosperma*, cuja composição é rica em alcalóides indólicos, substâncias com importantes aplicações terapêuticas sugere o potencial antileishmania de *Aspidosperma excelsum* o que pode aumentar o número de pesquisas em produtos naturais e de inovação farmacêutica.

2.6 *Aspidosperma excelsum* Benth

A *Aspidosperma excelsum* Benth (Figura 4) é uma espécie representada por árvores de 10-40m de altura, com ramos jovens muito espalhados e discretamente purulentos, glabros ou glabrescentes com a idade, apresentando uma secreção branca ou cremosa que constitui o seu látex. (Morales., 2005).

Figura 4: Carapanaúba a) Tronco de Carapanaúba; b) Carapanaúba, vista da árvore.

Fonte: Adaptado de (Xavier 2015; Gonçalves, 2019)

Tradicionalmente, os derivados de *Aspidosperma* como cascas e raízes, são utilizados na medicina popular devido às suas propriedades terapêuticas. Na Amazônia brasileira é comum o uso do mesmo nome vernacular para espécies distintas de Aspidosperma (Reis.*et al*, 2015). O termo carapanaúba é comumente usado para *A. excelsum Benth.*, *A. carapanauba Pichon e A. discolor*.

A espécie *A. excelsum* Benth é uma espécie com grandes aplicações na terapêutica popular. No Brasil é utilizada como carminativa, estomáquica, contra bronquite, inflamações, febres, no diabetes, contra o câncer e a malária (Mejila; Rengifo, 2000; Perez, 2002). Estudos recentes têm investigado suas atividades biológicas, incluindo efeitos antibacterianos, anti-inflamatórios e anticâncer, além de suas propriedades fitoquímicas.

Tradicionalmente, *Aspidosperma excelsum* Benth tem sido utilizado como agente terapêutico em uma variedade de doenças, como infecções respiratórias, febres e doenças de pele. As partes aéreas da planta, como a casca, são as mais utilizadas para a preparação de extratos medicinais. Diversos estudos científicos têm investigado suas propriedades farmacológicas.

De acordo com Vásquez *et al*., (2014); Paula *et al*., (2014) e Oliveira *et al*., (2015) as folhas e cascas do caule são utilizadas na forma de chá ou maceradas e o material obtido é utilizado, no tratamento de inflamações, diabetes, fígado, pressão alta, malária, feridas e também como anticoncepcional. *A. excelsum Benth* (carapanaúba) é uma espécie com grandes aplicações na medicina popular (Veiga.,2019).

No Peru, é utilizada por Índios Shipibo-Conibo, para o tratamento da hepatite e malária, e por outros nativos como afrodisíaco, vasodilatador, anti séptico, antimicrobiano, cicatrizante, aumento da pressão sanguínea e bronquite. Apesar de amplamente utilizada, *Aspidosperma excelsum* não possui monografia na Farmacopeia Brasileira que estabeleça parâmetros de autenticidade e grau de pureza para o seu uso seguro.

Os dados que provavelmente sustentam estas indicações etnofarmacológicas, em especial a atividade antimalárica, que é comum nas espécies do gênero, é a presença do conteúdo alcaloidal. Estudos fitoquímicos de extratos obtidos das cascas de *A. excelsum* Benth levaram ao isolamento de ioimbina, O-acetilioimbina, excelsinina, O-acetilexcelsinina, 16-epi-excelsina (Benoin, Burnell; Riedin., 1967; Burnell; Nguyên-Thi-Sem., 1971) entre outras substâncias.

Além disso, Pereira *et al*., (2007), em um trabalho de revisão, identificou estruturalmente 18 alcalóides na espécie até aquele momento. A descrição da estrutura das substâncias demonstrou tratar-se de alcalóides indólicos. Os alcalóides de *Aspidosperma excelsum* têm mostrado ser promissores na medicina devido às suas atividades biológicas conforme visto na Tabela 3.

Tabela 3: Alcalóides Isolados de *Aspidosperma excelsum* Benth Com Base na Literatura

Parte da Planta do estudo	Substâncias Identificadas ou Isoladas de *A. excelsum*	Propriedades Atividade	Referência
Casca da raiz	Excelsinidina	------	Layne *et al*., 2007
Casca do caule	Isoreserpilina, Reserpilina, 3α,20β-corinan-17-ol, E-15S,16S-isositsiriquina, Substância G (estrutura inédita)	Potencial antimalárico, com CI50 variando de 10,3 µM a 78,9 µM frente a *P. falciparum*	Lopes., 2019
Casca da raiz	11-Metoxitubotaiwina, Ocrolifuanina A, Tetraidro-secamina, 16-Desmetoxicarboniltetraidro-secamina, 16-hidroxitetraidro-secamina, 16-hidroxi,16-desmetoxicarboniltetraidro-secamina, Didesmetoxicarboniltetraidrosecamina, compactinervina, N-acetilaspidospermidina, O-metilaspidospermina, 3α-aricinina, O-aceltioimbina	Atividade antimicrobiana (sete primeiros compostos)	Verpoorte *et al*., 1983
Casca do caule	Isoreserpilina, Reserpilina, 3α, 20β-corinan-17-ol, 10-metoxi-corinan-17-ol, 15S,16S-E-isositsiriquina, N-óxido-15S,16S-E-isositsiriquina, 3α,15α-10-metoxi-geissosquizol, E-15S,16S-isositsiriquina, Substância G 2FBC-4-A	Atividade antimalárica moderada frente à cepa K1 de *P. falciparum*; não citotóxica para fibroblastos humanos (MRC-5)	Lopes., 2019
Casca do caule	Aspidospermidina, N-acetilaspidospermidina, 10-metoxiaspidospermidina, Desmetoxipalosina, Palosina, O-Desmetilpalosina, Aspidocarpina, Desacetilaspidocarpina	Estudo do potencial citotóxico e antimalárico	Pereira *et al*., 2007
Casca do caule	10-Metoxi-15S,16S-E-isositsiriquina, N-óxido-15S,16S-E-isositsiriquina, 3α,15α-10-metoxi-geissosquizol	Atividade antimalárica seletiva e baixa citotoxicidade em células normais	Lopes., 2019

Fonte: A autora., (2025)

Estudos sobre espécies do mesmo gênero indicam diversas atividades biológicas, incluindo ação antinociceptiva e anti-inflamatória (Nogueira *et al*., 2014; De Araújo *et al*., 2018; Lins *et al*., 2021), antimicrobiana (Pessini *et al*., 2012), antibacteriana (Da Silva *et al*., 2016), larvicida (Viana., 2015) e antileishmania (Barbosa., 2014). Além disso, demonstraram atividade antioxidante (Barbosa., 2014), neuroprotetora (De Araújo *et al*., 2018) e antimalárica contra *Plasmodium falciparum* (Santos., 2010; Leite., 2016; Ceravolo *et al*., 2018; Souza Lima *et al*., 2017). Estudos também avaliaram sua toxicidade frente a Artemia salina (Lima., 2011; Santos., 2016) e sua toxicidade aguda (Santos., 2016).

Devido à sua composição fitoquímica única e suas múltiplas atividades biológicas, *Aspidosperma excelsum* Benth tem grande potencial como fonte de novos medicamentos, especialmente para o tratamento de infecções bacterianas e inflamação crônica. Contudo, mais estudos clínicos são necessários para validar essas propriedades em humanos e para determinar as doses terapêuticas seguras. A determinação da atividade antioxidante e antileishmania das amostras servirão como guia para a realização dos fracionamentos na busca das substâncias responsáveis pela ação antileishmania.

A presença de metabólitos com aplicações terapêuticas em *Aspidosperma excelsum* Benth, aliada à eficácia de outras espécies do gênero contra parasitas e ao uso popular no tratamento da malária, aponta para seu potencial antiparasitário. A busca por novas substâncias para fins terapêuticos deve ser incentivada constantemente, pois deve ser levada em consideração a biodiversidade da flora na Floresta Amazônica, considerada a maior do mundo, com grandes oportunidades para explorar seus recursos para fins terapêuticos, principalmente para muitas doenças que carecem de medicamentos mais eficazes, tais como as doenças negligenciadas, exemplo da Leishmaniose tegumentar (Oliveira *et al*., 2008).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Investigar a composição química das cascas de *Aspidosperma excelsum* Benth e avaliar sua atividade antioxidante e o potencial antileishmania frente a *Leishmania* (*Viannia*) *guyanensis*.

3.2 Objetivos Específicos

a) Obter extratos brutos das cascas de *Aspidosperma excelsum* Benth utilizando solventes de diferentes polaridades;

b) Identificar os constituintes químicos presentes nos extratos por meio de Espectrometria de Massas com Ionização por Electrospray (ESI-MS);

c) Caracterizar os constituintes do extrato aquoso utilizando Espectrometria de Massas com Ionização Química à Pressão Atmosférica em Tandem (APCI-MS/MS);

d) Quantificar o teor de compostos fenólicos totais nos extratos obtidos;

e) Determinar a atividade antioxidante dos extratos por meio dos ensaios DPPH•, ABTS•+ e FRAP;

f) Avaliar a atividade antiparasitária dos extratos frente às formas promastigotas e amastigotas de *Leishmania* (*Viannia*) *guyanensis*;

g) Investigar, por meio de estudos *in silico*, o potencial biológico dos compostos identificados, utilizando técnicas de docking molecular para prever interações com alvos moleculares relacionados à leishmaniose cutânea;

h) Correlacionar o perfil químico dos extratos com suas atividades biológicas.

4. MATERIAS E MÉTODOS

4.1 Coleta do Material Botânico

A espécie *Aspidosperma excelsum* Benth (Carapanaúba) foi adquirida em comércio local localizado na rua Uatumã N° 1641, Araújo Costa no município de Itacoatiara-AM conforme visto na Figura 5 (Coordenadas Latitude: -3.136342 de longitude: -58.438515). A espécie encontrava-se já seca para realização dos procedimentos de obtenção do extrato. Ao todo foram obtidas 3 amostras, no mesmo local de aquisição, nas referidas datas: 08/08/2023, 20/07/2024 e 04/10/2024.

Figura 5: Localização da Feira onde Foram Obtidas as Amostras

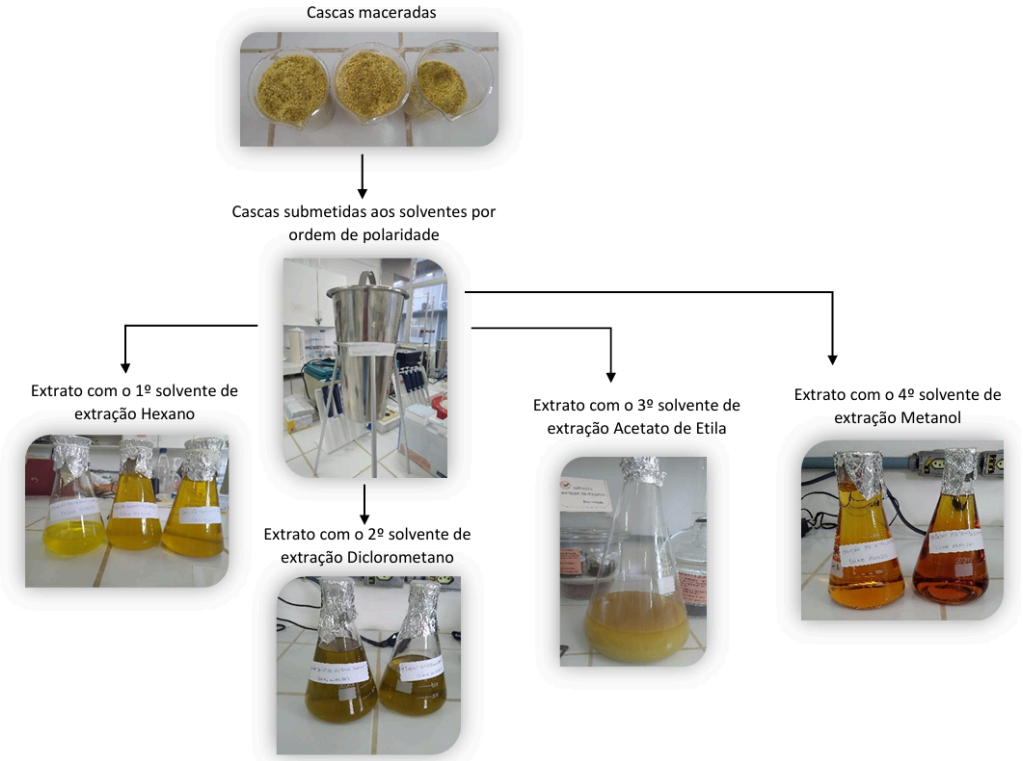
Fonte: Google. Maps

4.2 Preparo dos Extratos Orgânicos

O material vegetal coletado foi submetido à moagem em moinho de facas até a obtenção de um pó fino e homogêneo, conforme metodologia adaptada de Silva et al. (2020). Ao término da moagem, obteve-se uma massa total de 569,38 g do material vegetal processado.

Para a obtenção dos extratos brutos, todo o material vegetal pulverizado foi submetido à extração por maceração por meio de aparelho de percolação com solventes em ordem crescente de polaridade: Hexano, Diclorometano, Acetato de Etila e Metanol. Para cada extração, o material botânico foi deixado em contato com o solvente por 48 horas, após este período, procedeu-se a renovação do solvente até o esgotamento dos líquidos orgânicos (Figura 6).

Figura 6. Esquema de obtenção dos extratos de diferentes polaridades.



A filtração foi realizada com algodão e as soluções extraídas foram concentradas em Rotaevaporador (FISATOM, modelo 801) sob pressão reduzida à 40 ºC e 40 rpm e levados para secagem em dessecador, sendo obtidos os extratos brutos, que foram codificados considerando o nome da espécie e do solvente de extração: hexânico (AEHX), Diclorometano (AEDC), Acetato de etila (AEAC), Metanol (AEME).

Após todos os processos citados anteriormente, calculou-se o rendimento através da seguinte fórmula: Re= (Pext/Pmaterial) x 100. Onde: Re= rendimento total do extrato (%); Pext= peso do extrato seco (g); Pmaterial= peso do material seco (g).

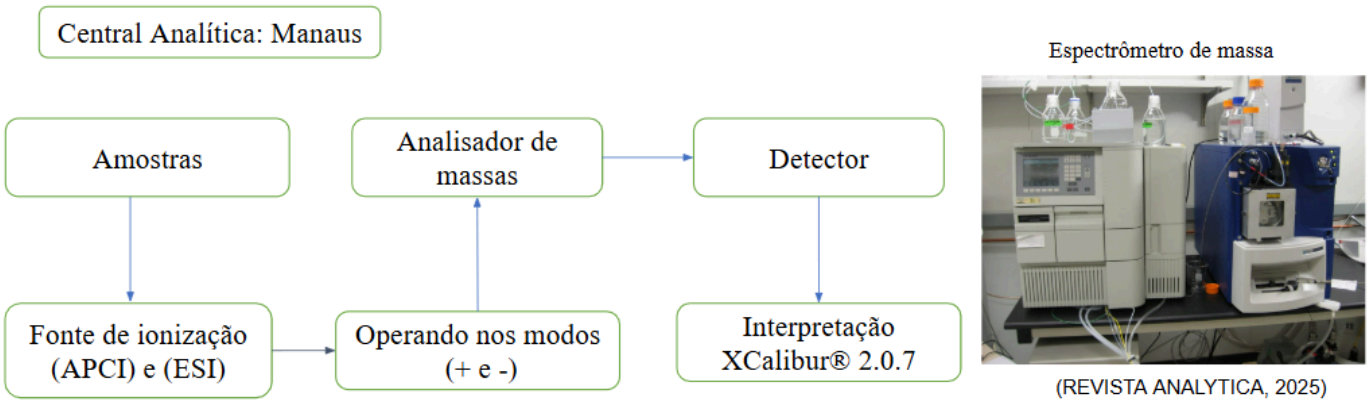
4.3 Preparo da Infusão

As cascas secas e limpas da planta foram coletadas e fragmentadas em pequenos pedaços para aumentar a superfície de contato. Foram pesadas 500g da amostra e adicionada a 1L de água destilada quente (90–95 °C). A mistura foi posta em infusão por 30 minutos, com agitação ocasional para garantir a extração homogênea. O líquido resultante foi filtrado utilizando gaze ou papel de filtro, separando partículas sólidas do extrato. O extrato filtrado foi congelado a temperaturas inferiores a -20 °C. Em seguida, foi submetido à liofilização. Obtendo-se o extrato aquoso (AEAEX).

4.4 Espectrometria de Massas dos Extratos Hexânico, Diclorometânico, Acetato De Etila e Metanólico

A análise química de Espectrometria de Massas foi realizada na Central Analítica da UFAM-Manaus, e os espectros de massa foram obtidos a partir da injeção direta e m espectrômetro de massa com ionização por electrospray (ESI) e analisador *íon trap* (modelo LCQ Fleet, Thermo Scientific), operando nos modos positivo e negativo usando coluna Luna 5 µm C18 (100 Å, 150 x 4,6 µm) com pré-coluna da mesma fase (Figura 7). A aquisição de dados foi realizada pelo software XCalibur® 2.0.7.

Figura 7. Esquema de análise da espectrometria de massas (APCI e ESI)



4.5 Espectrometria de Massas do Extrato da Infusão das cascas de *A. excelsum* Benth

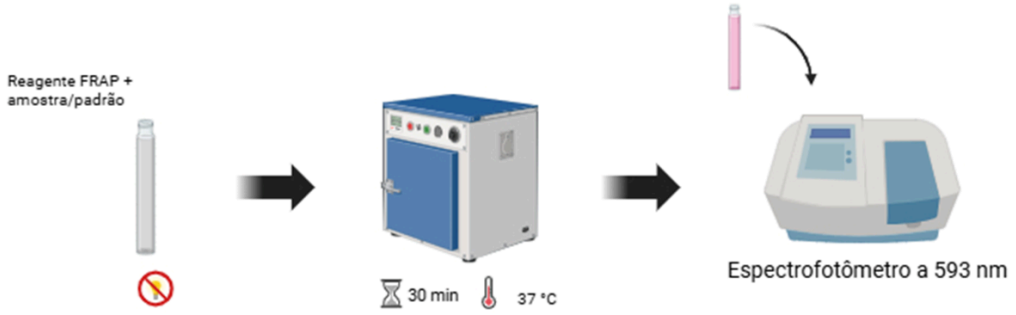
Os espectros de massas das frações e extratos brutos (1mg/mL) foram adquiridos por infusão direta em espectrômetro íon trap LCQ FleetTM (Thermo Scientific) operando nos modos positivo e negativo. O aparelho foi equipado com fonte de ionização Química à Pressão Atmosférica (APCI) e programado para monitorar a faixa de m/z 100-1000 da. Foram utilizados os seguintes parâmetros de operação: sonda (capilar), tensão de 4,5 kV (modo positivo) e 3,8 kV (modo negativo); nitrogênio (30 psi); gás de secagem (5 psi); temperatura da fonte 250°C; e lentes offset e túbulos capilares em 35 V e 75 V, respectivamente (Figura 7) . Os espectros obtidos foram analisados através do software XCalibur® 2.0.7.

4.6 Testes da Capacidade Antioxidantes e Fenóis Totais

A determinação do potencial antioxidante foi dada a partir do contato dos extratos das cascas de *A. excelsum* com os radicais 1,1-difenil-2- picrilhidrazil (DPPH•) e 2,2´- azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) ABTS•+ e FRAP. Pelo método FRAP, a capacidade antioxidante dos extratos foi avaliada segundo os procedimentos descritos Rufino., (2006), com modificações.

Pelo método FRAP, a capacidade antioxidante dos extratos foi avaliada segundo os procedimentos descritos Rufino (2006), com modificações. O reagente FRAP foi preparado a partir de 100 mL de tampão acetato 0,3M (pH 3,6), 10 mL de 2,4,6-tris (2-pyridyl) -S-triazina (TPTZ) 10,0 mM e 10 mL de Cloreto férrico ($FeCl_3$) 20 mM. As amostras (90 µL), solubilizadas em metanol à 1 mg/mL, foram adicionadas a 270 µL de água destilada e 2,7 mL do reagente FRAP, em triplicata, e posteriormente incubadas em estufa à 37ºC (Labor SSA-150L) por 30 minutos. Após o tempo de incubação, as absorbâncias foram medidas no comprimento de onda igual a 593 nm (Benzie; Strain, 1996). A curva padrão de Sulfato ferroso foi y = 0,0011x + 0,1515 (R^2 = 0,9896). (Figura 8)

Figura 8.Esquema de análise do método FRAP



4.6.1 Atividade Antioxidante pelo Método de DPPH•

O ensaio com o radical livre DPPH• iniciou-se com a solubilização de 5,9 mg do radical em 100 mL de metanol, e as soluções dos extratos foram preparadas na concentração 0,1 mg /1 mL de metanol. Das amostras foram retirados 100 µL (1 mg/mL) e adicionados a 3,9 mL de solução de DPPH•, essa mistura foi deixada 30 minutos no escuro e a leitura foi realizada em espectrofotômetro (Medtherm) em 515 nm. (Figura 9).

Figura 9. Esquema de análise do método de DPPH•

A curva padrão foi obtida utilizando Trolox® como amostra padrão, em concentrações de 100, 500, 1000, 1500 e 2000 µM e os resultados foram expressos em µM de Equivalentes de Trolox (Molyneux, 2004; Re *et al*., 1999).

4.6.2 Atividade Antioxidante pelo Método ABTS•+

A avaliação frente ao radical ABTS•+ iniciou-se com a obtenção inicial de uma mistura com 19,2 mg do radical em 5 ml de água e 9,46 mg de persulfato de potássio ($K_2S_2O_8$). Em 250 µL de água. Foi realizada a mistura de 5 mL de solução de ABTS•+ a 7 µM e 88 µL de persulfato de sódio a 140 µM, mantido no escuro por 16 horas. Após isso, 1 mL da solução foi misturado com etanol até a absorbância de 0,70 (734 nm). Dessa solução 3,0 mL foram misturados com 30 µL de amostra (1 mg/mL) e deixados para reagir no escuro por 6 minutos.

Após isso realizou-se a leitura em espectrofotômetro a 734 nm. A curva padrão de Trolox foi construída entre 100 e 2000 µg mL−1, sendo expressa pela equação (y = -0,0002x + 0,6548, R2 = 0,9986). Este ensaio foi realizado em triplicado e seus resultados foram expressos em expressos em µM de Equivalentes de Trolox (Molyneux *et al*., 2004; Re *et al*., 1999) (Figura 10).

Figura 10. Esquema de análise do método de ABT•+

4.6.3 Determinação do Teor de Fenólicos Totais

Para o ensaio de fenóis totais as amostras foram adicionadas a mistura reacional na proporção (1:1) do reagente de Folin Ciocalteu e bicarbonato de sódio (6%). A mistura reacional foi mantida no escuro por 90 min para posterior análise em Espectrofotômetro de ultravioleta-visível a 725 nm (Epoch 2, Biotek). Foi construída uma curva padrão de ácido gálico de 31,25 a 1000,0 µg/mL, expressa pela equação y = 0,0089 x + 0,00156, R^2 = 0,999. Este ensaio foi realizado em triplicado e a e a quantificação de fenóis foi dada em Equivalentes de ácido gálico (EAG) (Figura 11) (Velioglu *et al*., 1998).

Figura 11. Esquema de análise da determinação de fenóis totais.

4.7 Avaliação da Atividade Antiparasitária das Amostras obtidas Frente às Formas Promastigotas de *Leishmania* (*Viannia*) *guyanensis*;

4.7.1 Manutenção dos Parasitas e Preparo de Massa Parasitária

Foram utilizadas formas promastigotas de *Leishmania* (Viannia) *guyanensis* (MHOM/BR/1975/M4147), criopreservadas no criobanco do Laboratório de Leishmaniose e Doenças de Chagas/COSAS/INPA. Para o cultivo das formas promastigotas foi utilizado o meio RPMI 1640 suplementado com soro fetal bovino inativado (SFBi) e 50 µg mL-1 de antibiótico (Gentamicina), incubados a 25ºC de acordo com Jaffe et al. (1984), e posteriormente utilizados para os bioensaios.

4.7.2 Determinação da Atividade antileishmania e Concentração Inibitória 50% (IC_{50}) das Amostras Químicas

A atividade antileishmania das substâncias foi avaliada pela inibição do

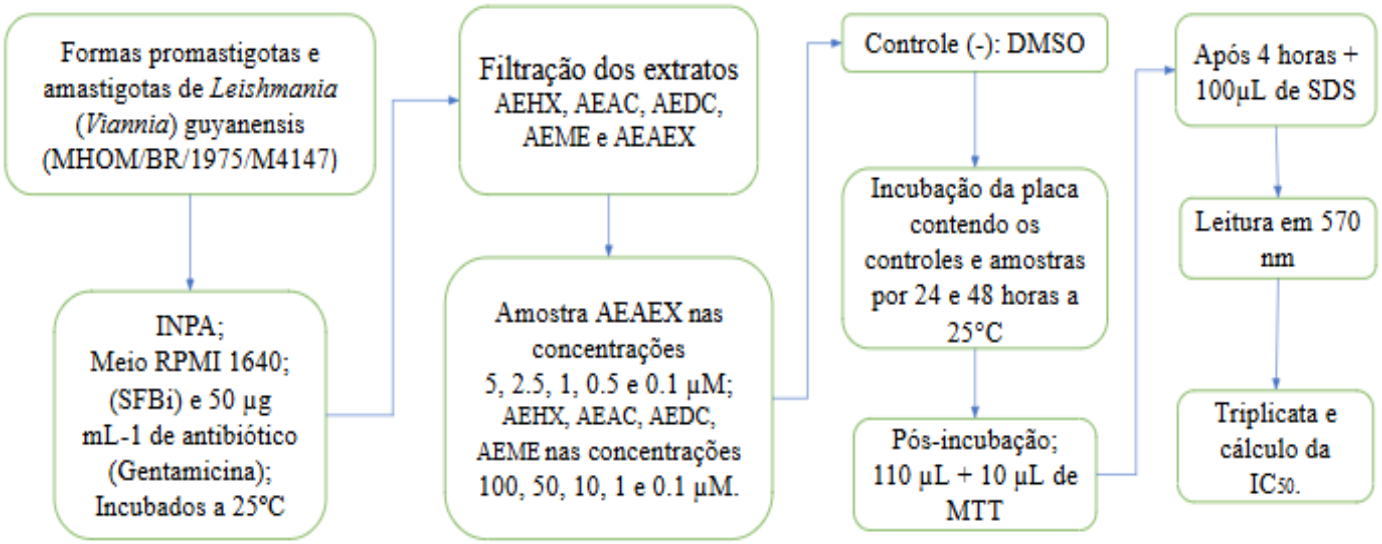
crescimento e pela mortalidade de promastigotas de *Leishmania spp*. As amostras (AEHX, AEAC, AEDC, AEME e AEAEX) foram previamente filtradas e diluídas em meio de cultura adequado. Nos ensaios biológicos, utilizaram-se as seguintes concentrações: AEAEX (5, 2,5, 1, 0,5 e 0,1 μM), AEHX, AEAC, AEDC e AEME (100, 50, 10, 1 e 0,1 μM). O controle negativo consistiu em DMSO a 1% (dimetilsulfóxido, Merck). As placas de bioensaio, contendo promastigotas, controles e amostras-teste, foram incubadas em estufa a 25 °C por 24 e 48 h.

Após o período de incubação, foram retirados 110 μL do meio de cultura de cada poço. Em seguida, adicionaram-se 10 μL do reagente MTT (3-[4,5-dimetil-2-tiazolil]-2,5-difenil-2H-tetrazólio brometo) (Roche), preparado a uma concentração de 10%. As placas foram mantidas novamente em incubação por 4 horas, a 25 °C, para permitir a formação do formazan — produto resultante da redução do MTT pelas enzimas mitocondriais das células viáveis.

Após esse período, adicionaram-se 100 μL de SDS (dodecil sulfato de sódio) em cada poço, com a finalidade de solubilizar os cristais de formazan formados. As placas foram então mantidas em temperatura ambiente, protegidas da luz, por aproximadamente 12 horas (overnight), garantindo a completa dissolução do produto.

No dia seguinte, as leituras colorimétricas foram realizadas em espectrofotômetro (Bio-Tek®) com comprimento de onda ajustado para 570nm. Todos os bioensaios foram realizados em triplicata, e os resultados expressos como média do número de células viáveis. Essa média foi utilizada para o cálculo da concentração inibitória média (IC_{50}), que representa a concentração da substância capaz de inibir 50% do crescimento dos parasitas (Figura 12).

Figura 12. Esquema metodológico da determinação de atividade antileishmania.



4.8. *Docking* Molecular

Para realização do *docking*, as proteínas foram obtidas a partir do banco de dados de proteínas (PDB (*Protein Data Bank*)), considerando os parâmetros de qualidades de estruturas cristalográficas a saber, resolução do cristal, gráfico de Ramachandran e fator de qualidade geral. Os parâmetros de qualidade da estrutura foram avaliados através do servidor *web* SAVES 6.0., disponibilizado gratuitamente pela Universidade da Califórnia (UCLA). Após a verificação da estrutura proteica, foi determinado os estados de protonação da proteína em pH fisiológico (7,4), cofatores e adição de hidrogênios e de cargas, utilizando o programa Chimera 1.15 (Petterson *et al*., 2004). As moléculas foram desenhadas no programa Spartan 20, para realização de cálculos de otimização, a saber, seleção dos confôrmeros mais estáveis (de menor energia, utilizando o campo de força MMFF) seguida por uma otimização geométrica (no intuito de corrigir distâncias e ângulos dos átomos de cada ligante planejado) utilizando o método semi-empírico PM6 (*Parametric Method* 6) (STEWART, 2009). Posteriormente, foi feita a validação do método de ancoragem molecular, realizando o *docking* da molécula co-cristalizada (QMI) com a proteína NMT (código PDB:4A30), de modo a avaliar a capacidade das funções de pontuação do programa GOLD (versão 2022.3.0) em determinar a pose do ligante co-cristalizado com relação aos valores experimentais para a mesma molécula, considerando o valor de desvio médio da raiz quadrada (*Root Mean Square Deviation* (RMSD)) como o parâmetro de validação para todas as funções disponíveis a saber: *ChemPLP*, *ChemScore*, *GoldScore* e ASP.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Rendimento dos Extratos

Os rendimentos dos extratos das cascas de *Aspidosperma excelsum* Benth, estão apresentados na Tabela 4 a seguir:

Tabela 4**:** Codificação e Rendimento dos Extratos

Extrato	Código	Significado	Peso (g)	Rendimento (%)
Hexânico	AEHX	Extrato hexânico de *A. excelsum*	1,0095	0,18
Diclorometânico	AEDC	Extrato dicloro metanólica de *A. excelsum*	0,904	0,16
Acetato de etila	AEAE	Extrato de acetato de etila de *A. excelsum*	1,616	0,28
Metanólico	AEME	Extrato metanólica de *A. excelsum*	9,982	1,75
Extrato aquoso	AEAEX	Extrato aquoso de *A. excelsum*	15,25	8,4

Fonte: A autora., (2025)

Os extratos hexânico e diclorometânico apresentaram os menores rendimentos, isso pode estar associado ao baixo teor de substâncias apolares presentes na amostra. Por outro lado, a fração metanólica obteve o maior rendimento, indicando que a espécie é rica em substâncias polares. Os estudos conduzidos por Gomes. (2001) apresentaram perfil semelhante ao obtido neste trabalho

Em relação ao extrato metanólico, Sales. (2019) obteve um rendimento inferior ao deste trabalho, o que pode estar relacionado a diferenças nas condições de extração, como tempo, temperatura, proporção do solvente e características específicas da espécie vegetal utilizada. Além disso, fatores como a sazonalidade, o local de coleta e o método de secagem do material vegetal podem influenciar diretamente no rendimento do extrato, conforme destacado na literatura.

5.2 Identificação do Perfil Químico por Espectrometria de Massas

As análises dos extratos por espectrometria de massas com ionização por ESI-MS (MS-MS) foi empregada para identificar os metabólitos presentes nos extratos sem a necessidade de isolamento prévio dos compostos. Essa identificação ocorreu por meio da espectrometria de massas sequencial (MS^2 modo positivo), aliada aos dados de MS disponíveis na literatura (descritos na tabela 5) sobre *A. excelsum* e outras espécies do mesmo gênero ou família. Os resultados obtidos para as moléculas identificadas nas amostras analisadas estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5: Substâncias identificadas através da análise por espectrometria de massas de ionização por electrospray - ESI - MS.

Amostra	Substância sugestiva	*m/z (M+H)*	*m/z (M-H)*	Fragmentação	Referência
AEME	Reserpilina	413,23	-	222; 204	Kumar., (2016)
AEDC; AEAC; AEME;	11-Metoxi-ioimbina	385	-	174; 159	Miet et al., (1997) Trindade., (2024)
AEAC, AEME	Reserpinina	383,21	-	174; 159	Kumar., (2016)
AEDC; AEAC; AEME; AEAEX	Ioimbina	355,22	-	329; 224; 212; 144	Kumar., (2016)
AEDC; AEAC; AEME; AEAEX	Ajmalicina	353,2	-	323; 321; 291;251	Sun., (2011) Pereira., (2007)
AEDC; AEAC; AEME	Ácido iombínico	341,2	-	309; 198; 144	Sun., (2011)
AEDC; AEAC; AEME; AEAEX	10-Metóxidihidrocorinanteol	329	-	286, 251; 214; 168	Dastoor; Gorman; Schmidt., (1967)
AEDC;AEAEX	Corinanteidol	299,23	-	168; 156; 144	Sheelard., (1997)
AEAEX	Ácido Quinínico	191	-	173; 127; 109; 93; 85	Bitwell et al., (2023), Trindade 2024

Legenda: AEDC: Extrato Dicloro metanólico de *A. excelsum*, AEAC: Extrato de Acetato de Etila de *A. excelsum*, AEME: Extrato Metanólico de *A. excelsum*, AEAEX: Extrato aquoso de *A. excelsum*.

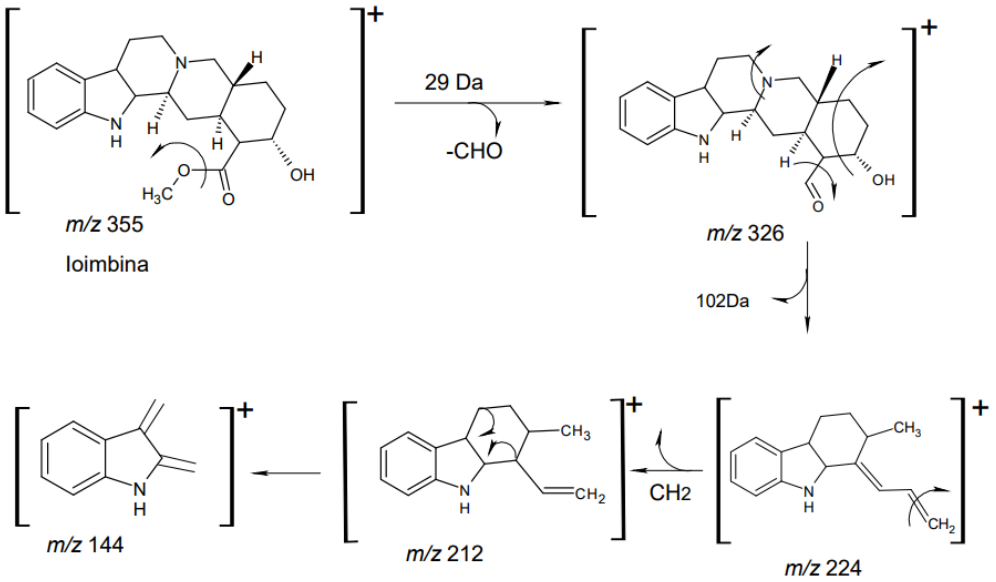
Fonte: A autora., (2025).

5.2.1 Substância encontrada no extrato Diclorometânico de *Aspidosperma excelsum* Benth

Os espectros referentes ao extrato AEDC de *Aspidosperma excelsum* Benth encontram-se no Apêndice, Figuras 22 e 23. O ESI-MS, modo positivo, permitiu observar um sinal referente à molécula protonada em *m/z* 355 (Figura 13). A análise do MS_2 permitiu observar a formação de um fragmento de *m/z* 326, que foi atribuído à perda de 29 Da, referente a clivagem e eliminação de um grupo formila (-CHO).

Outros sinais observados, também fornece informações adicionais, como a perda de 102 Da, referente ao fragmento em *m/z* 224, possivelmente devido à remoção do anel piperidínico e água. A perda subsequente de 12 Da gera uma cadeia lateral composta por uma unidade de isopreno (C_5H_8) ligada a um anel indólico ($C_{10}H_{16}N$), totalizando $C_{15}H_{24}N$. Por fim, a clivagem final leva à formação do fragmento *m/z* 144, um núcleo indólico altamente estabilizado por ressonância, semelhante à isatina. Esse padrão de fragmentação foi observado em estudos de espectrometria de massas, como o descrito na dissertação de Montoia (2016). Esse tipo de fragmentação é muito comum em alcalóides indólicos, onde a clivagem seletiva ocorre em ligações mais frágeis, gerando fragmentos estabilizados por ressonância. Os perfis de fragmentação desta substância correspondem às fragmentações descritas na literatura para Ioimbina (Kumar, 2016 e Araújo 2022).

Figura 13**:** Proposta de fragmentação do íon *m/z* 355.



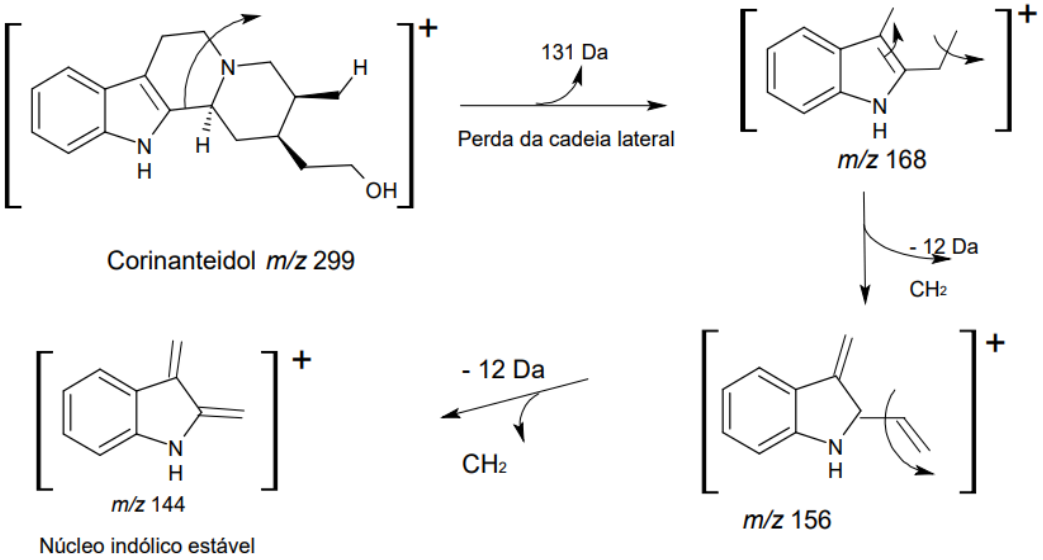
Fonte: Adaptado de Sun., (2011)

Os espectros permitiram observar um sinal referente à molécula protonada em *m/z* 299. Esse íon sugere perdas sucessivas de grupos funcionais estáveis. A primeira perda, de 131 Da, corresponde à eliminação da porção lateral da molécula, que inclui a cadeia hidroxilada e parte do anel tetracíclico, resultando no fragmento em *m/z* 168.

Em seguida, ocorre a eliminação de um átomo de carbono na forma de uma ligação metilênica (-CH_2), com a perda de 12 Da, gerando o fragmento em *m/z* 156. Este fragmento pode ser estabilizado por ressonância aromática.

Uma segunda clivagem ocorre, removendo outro grupo metileno (-CH2), resultando na formação do núcleo indólico estável. O fragmento resultante, *m/z* 144, corresponde ao cátion indol-2,3-diona, conhecido por sua estabilidade eletrônica e reatividade. Os perfis de fragmentação (Figura 14) desta substância correspondem às fragmentações descritas na literatura para Corinanteidol (Araújo 2022, Shellard, 1973).

Figura 14: Proposta de fragmentação do íon *m/z* 299.



Fonte: A autora., (2025)

5.2.2 Substâncias encontradas no extrato Acetato de Etila de *Aspidosperma excelsum* Benth

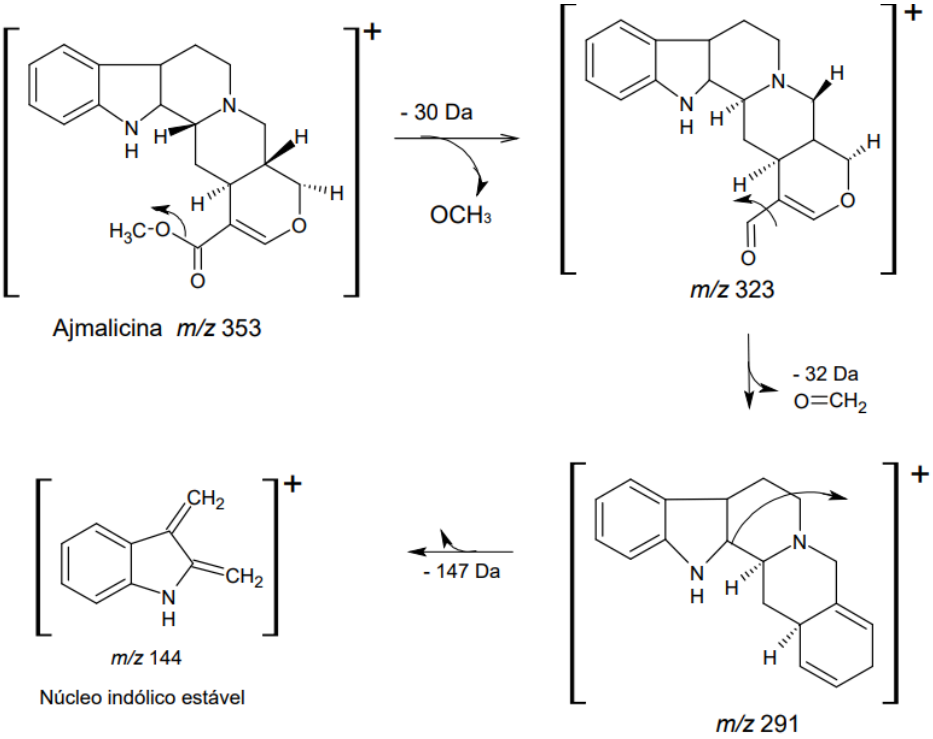
Os espectros das substâncias presentes no extrato AEAC de *Aspidosperma excelsum* Benth encontram-se no Apêndice, Figuras 24 e 25. As propostas de fragmentação podem ser observadas nas Figuras 15 e 16.

A primeira fragmentação ocorre com a perda do grupo metoxila (-OCH_3), resultando na perda de 30 Da e formando o fragmento em *m/z* 323. Em seguida, há a

perda de uma molécula de formaldeído (CH_2O), com a perda de 30 Da, gerando o fragmento em *m/z* 291.

Por fim, uma clivagem adicional gera um fragmento estável em *m/z* 144, que é similar à estrutura da isatina, possivelmente representando o núcleo indólico central estabilizado após rearranjo. Esses padrões de fragmentação são típicos de alcalóides indólicos, mas especificamente a ajmalicina, os quais já foram isolados no gênero *Aspidosperma* (Pereira et al., 2007). Essa substância também foi isolada e identificada em extratos metanólicos das cascas de *A. desmanthum* e *A. marcgravianum* (Silva et al., 2018).

Figura 15**:** Proposta de fragmentação do íon *m/z* 353

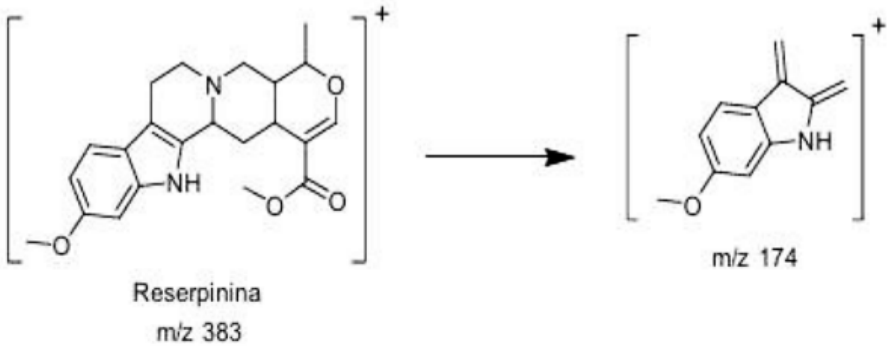


Fonte: A autora., (2025)

Os espectros permitiram observar um sinal referente à molécula protonada em *m/z* 383. A primeira etapa da fragmentação envolve a clivagem da ligação C–O da lactona, pelo fato de esta ser uma das regiões mais suscetíveis à fragmentação. Após a clivagem, ocorre um rearranjo eletrônico, que resulta na formação do fragmento *m/z* 174. Esse fragmento contém o núcleo indólico estabilizado, além de um sistema conjugado que inclui uma cetona α, β-insaturada. O grupo cetona é um dos elementos estabilizadores desse fragmento, pois permite que ocorra a deslocalização da carga positiva sobre o anel aromático. A fragmentação do íon precursor $[M-H]^-$ (*m/z* 383)

corresponde a Reserpinina alcalóide indólico que apresenta um sistema de anéis fusionados, possui um núcleo indólico e uma estrutura complexa composto por grupos éster e lactona (Kumar,2019 e Araújo 2022).

Figura 16: Proposta de fragmentação do íon *m/z* 383



Fonte: A autora., (2025)

5.2.3 Substância encontrada no extrato Metanólico de *Aspidosperma excelsum* Benth

Os espectros das substâncias presentes no extrato AEME de *Aspidosperma excelsum* Benth encontram-se no Apêndice, Figuras 25, 26 e 27.

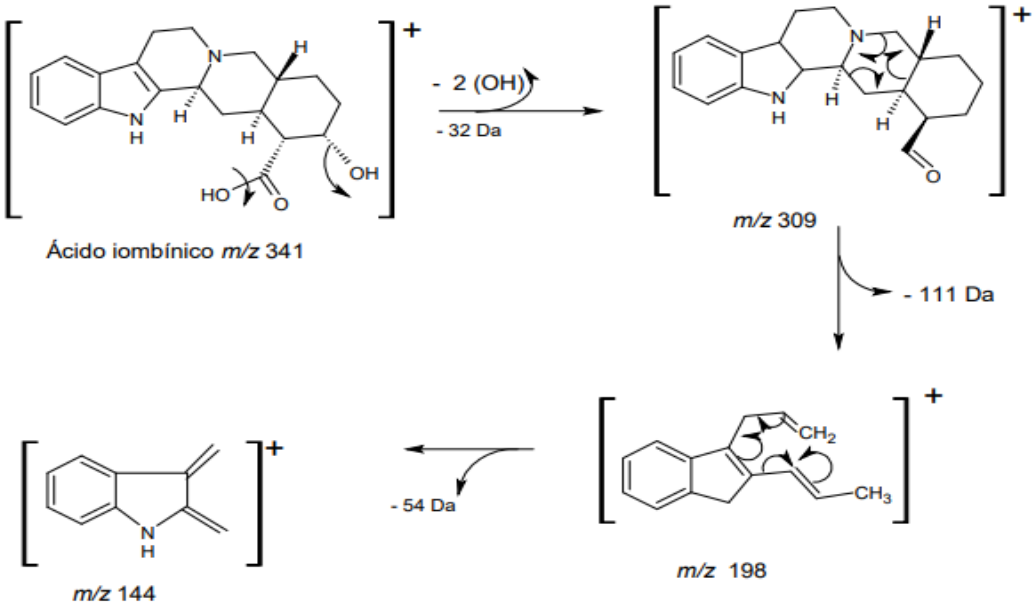
O ESI-MS, modo positivo, permitiu observar um sinal referente à molécula protonada em *m/z* 341 (Figura 17). A análise do MS_2 permitiu observar a formação de um fragmento de *m/z* 309, que foi atribuído à perda de 32 Da, referente a clivagem e eliminação de uma molécula de água ($-H_2O$), devido à presença do grupo hidroxila (-OH) na cadeia lateral, próximo ao carbono adjacente com hidrogênios móveis, que são suscetíveis a uma reação de eliminação.

Outros sinais observados, também fornece informações adicionais, como a perda de 111 Da, referente ao fragmento em *m/z* 198, resultante da separação da parte cíclica da molécula, que contém a carbonila em sua estrutura. O fragmento resultante preserva o núcleo indólico, que é estabilizado por ressonância, e forma o íon em *m/z* 198, mantendo o núcleo indólico e uma porção cíclica da molécula.

O íon em *m/z* 198, é referente a clivagem entre o nitrogênio da piperidina e o anel adjacente, originando o fragmento com perda de 54 Da que ocorre quando o íon *m/z* 198 sofre um rearranjo, eliminando grupos metilas. Esse processo simplifica ainda mais a estrutura do composto, resultando na formação do núcleo indólico isolado,

representado pela fórmula molecular $C_9H_{10}N^+$. Os espectros indicam que a substância analisada é o Ácido Ioimbínico (Sun, 2011).

Figura 17**:** Proposta de fragmentação íon *m/z* 341



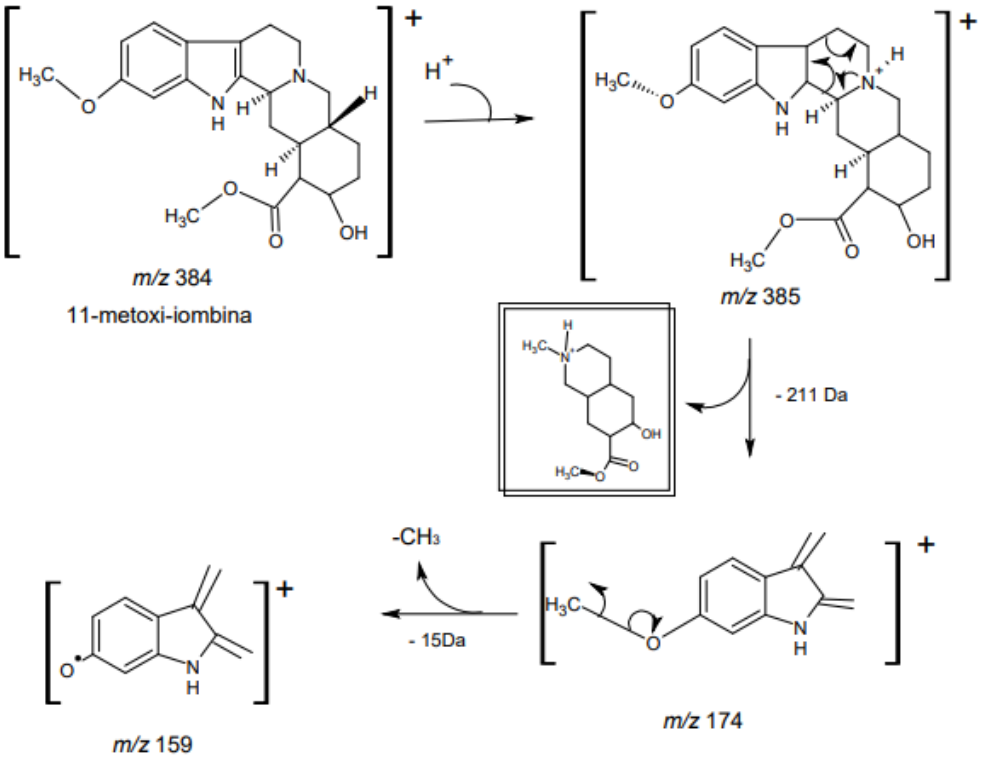
Fonte: A autora., (2025)

O extrato metanólico também apresentou o íon *m/z* 385 (Figura 18), que exibiu fragmentações em *m/z* 174 e *m/z* 159, conforme ilustrado na Figura 26 do Apêndice.

A análise do MS_2 permitiu observar a formação de um fragmento de *m/z* 174, que foi atribuído à perda de 211 Da, atribuída à eliminação inicial de um grupo terpeno presente na molécula, por meio de uma via de clivagem retro-Diels-Alder, seguida pela quebra do anel C (Miet et al., 1977). O fragmento em *m/z* 174 surgiu de uma perda adicional de 15 Da, resultante da eliminação de um grupo metila ($-CH_3$). (Trindade, 2024).

Os perfis de fragmentação desta substância correspondem às fragmentações descritas na literatura para 11-metoxiioimbina. Essa substância foi detectada por Araújo (2022) nas frações alcaloídicas das cascas de *Aspidosperma marcgravianum* e *Aspidosperma nitidum* por meio de espectrometria de massas. Além disso, a mesma substância foi isolada do extrato metanólico das cascas do caule e das sementes de *Aspidosperma spruceanum* por Oliveira *et al.* (2009).

Figura 18. Proposta de fragmentação íon *m/z* 385

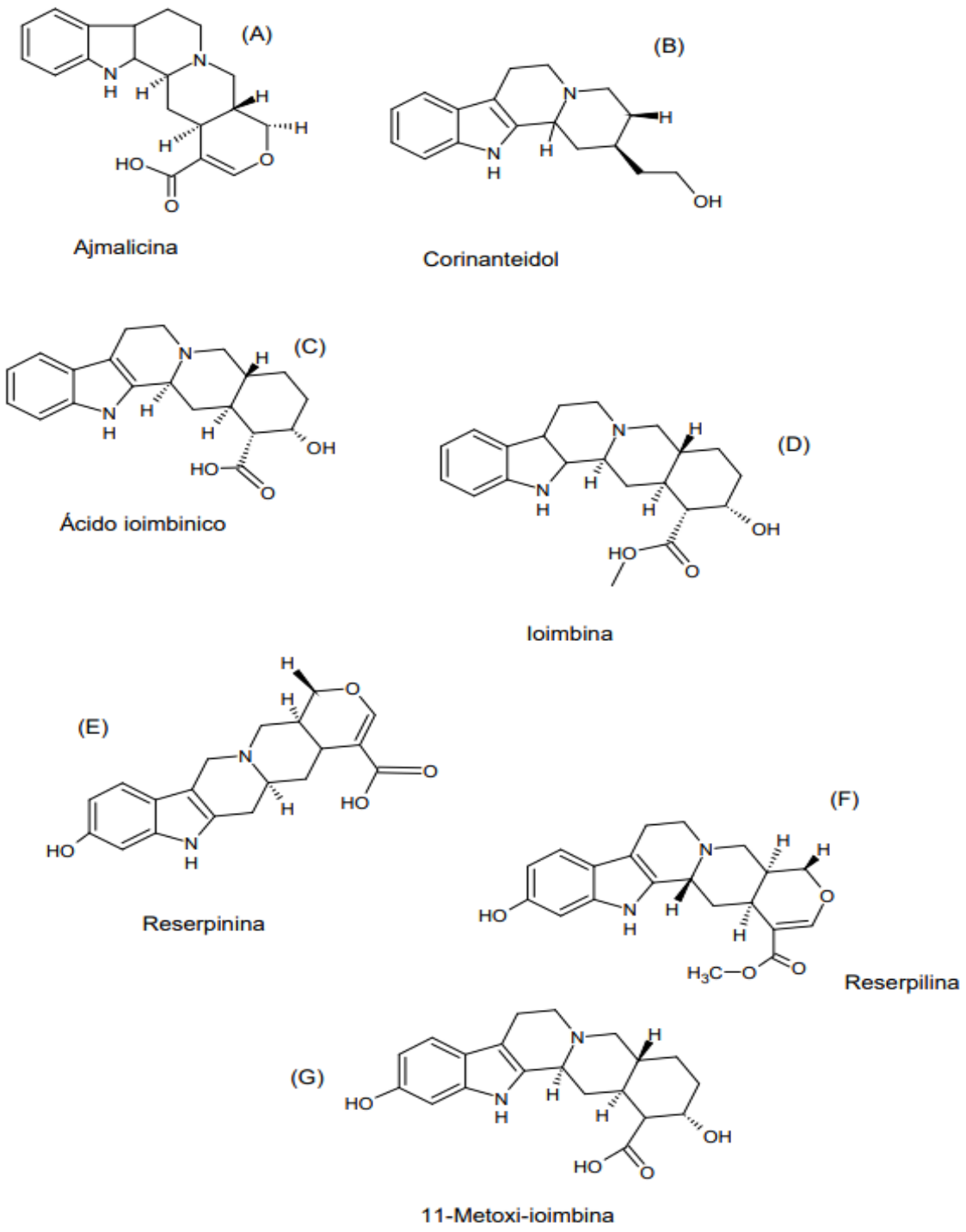


Fonte: Adaptado de Trindade., (2024)

Outra substância identificada neste trabalho é a Reserpilina com pico em *m/z* 413 apresentada no apêndice pela figura 27. As fragmentações identificadas em *m/z* 222 e *m/z* 204 foram comparadas na literatura no trabalho de Kumar *et al*. (2016).

A seguir na figura 19 são apresentadas as estruturas das substâncias identificadas por meio da espectrometria de massas nos extratos, AEDC, AEAC e AEME de *Aspidosperma excelsum* Benth,

Figura 19**:** Substâncias identificadas nos extratos AEDC, AEAC e AEME de *Aspidosperma excelsum* Benth.

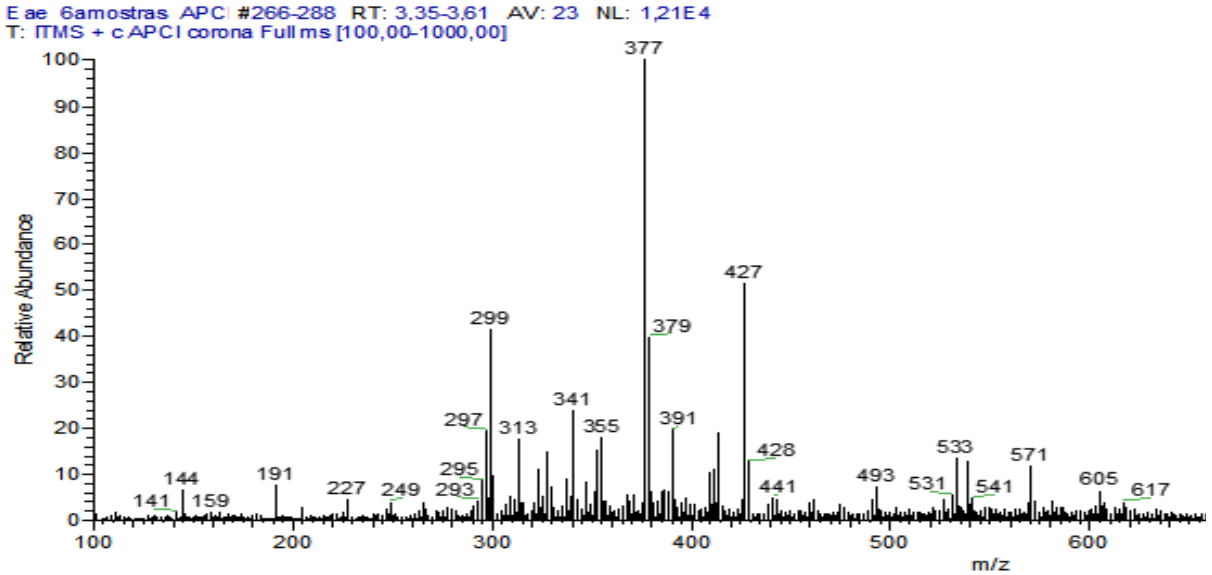


Fonte: A autora., (2025)

5.2.4 Substâncias encontradas no extrato aquoso de *Aspidosperma excelsum* Benth

O espectro geral das substâncias encontradas no extrato AEAEX de *Aspidosperma excelsum* Benth são apresentados na figura 20.

Figura 20**:** Espectro geral das substâncias identificadas no extrato aquoso de *Aspidosperma excelsum* Benth.



A análise dos compostos identificados nos extratos estudados permitiu correlacioná-los com aqueles detectados no extrato aquoso de *Aspidosperma excelsum* Benth. Estudos anteriores, como os de Bitwell et al. (2023) e Pereira et al. (2007), auxiliaram na identificação de alcalóides indólicos, incluindo ácido quínico (*m/z* 191), Corinanteidol (*m/z* 299), Ácido iombínico (*m/z* 341), 1-acetil-17-metoxi-aspidofractinina (*m/z* 352) e ioimbina (*m/z* 355). A presença desses compostos, muitos deles já reportados em outras espécies do gênero *Aspidosperma*, reforça a relevância química e farmacológica da planta, destacando seu potencial para estudos futuros na busca por novos agentes terapêuticos. Os espectros dos compostos identificados no extrato aquoso encontram-se nas figuras 28 e 28 no apêndice.

5.3 Avaliação do Potencial Antioxidante

Os resultados da quantificação de fenóis totais e atividade antioxidante frente aos radicais DPPH•, ABTS•+ e FRAP das amostras obtidas estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6: Potencial Antioxidante e Teor de Fenólicos Totais dos extratos de *Aspidosperma excelsum* Benth.

Extrato	DPPH• (µM ET)	ABTS•+ (µM ET)	FRAP (µM Fe^{2+}/g)	FT
AEHX	387,2 ± 29,4	1612 39,3 ± 51,1	232,89 ± 0,004	35,22 ± 3,51
AEDC	705,86 ± 37,1	1475 ± 180,5	382,89 ± 0,002	54,55 ± 1,81
AEAC	1351,2 ± 32	1275 ± 30,7	578,07 ± 0,009	76,16 ± 2,77
AEME	1129,2 ± 25,5	902,3 ±18,9	1043,26 ± 0,020	92,11 ± 2,96
AEAEX	113,87 ± 0,008	784,33 ± 0,008	381,04 ± 0,006	23,49 ± 0,079

Legenda: AEHX: Extrato Hexânico, AEDC: Extrato Diclorometânico, AEAC: Extrato Acetato de Etila, AEME: Extrato Metanólico, AEAEX:Extrato aquoso.

Fonte: A autora., (2025)

Os valores de fenóis totais variaram entre 35,22 a 92,11 mg EAG/g, sendo que os extratos AEAC e AEME apresentaram os maiores valores, seguidos pelos extratos AEDC, AEME e AEAEX.

No ensaio DPPH•, que avalia a capacidade de sequestro de radicais livres, o extrato de AEAC apresentou a maior atividade antioxidante (1351,2 ± 32 µM ET), seguido pelo extrato AEME (1129,2 ± 25,5 µM ET). Os extratos AEHX e EAAEX foram menos efetivos, apresentando TEAC (atividade antioxidante equivalente ao Trolox) de 387,2 ± 29,4 e 113,87 ± 0,008, respectivamente. No ensaio ABTS•+, o extrato AEHX apresentou os valores mais elevados (1612,39 ± 51,1 µM ET), seguido do extrato AEDC (1475 ± 180,5 µM ET). O extrato AEAC apresentou atividade moderada (1275 ± 30,7 µM ET), enquanto o valor mais baixo foi registrado no extrato AEAEX (784,33 ± 0,008 µM ET).

No teste FRAP, que mede a capacidade de redução do ferro, o extrato AEME apresentou o maior potencial redutor (1043,26 ± 0,020 μM Fe^{2+}/g), superior aos valores relatados por Araújo (2022), que obteve 886,83 ± 0,001 μM Fe^{2+}/g para alcalóides de *Aspidosperma spp*. O extrato de AEAC apresentou um valor intermediário (578,07 ± 0,009 μM Fe^{2+}/g), enquanto AEAEX teve o menor resultado (381,04 ± 0,006 μM Fe^{2+}/g).

Os extratos de *Aspidosperma excelsum* mostraram elevada atividade antioxidante frente ao radical ABTS•+, devido à presença de alcalóides indólicos como ioimbina e a 11-metoxiioimbina. Esses compostos, com estruturas indólicas estabilizadas por ressonância, são eficazes na estabilização de radicais livres por mecanismos SET (transferência de elétrons) e HAT (transferência de átomos de hidrogênio), o que explica sua maior eficiência nesse ensaio. Por outro lado, a atividade antioxidante foi menor no teste DPPH•, possivelmente devido à menor presença de grupos hidroxilas nos alcalóides indólicos, que são mais eficientes na doação de prótons, característica importante para o DPPH.

Além disso, os menores teores de fenóis totais (FT) podem ser atribuídos à maior predominância de alcalóides na espécie em estudo. Embora a presença de compostos fenólicos tenha sido detectada, eles não são os constituintes predominantes. Esse fator influencia a menor atividade observada no teste FRAP, que mede a capacidade de redução do ferro e é mais sensível a compostos fenólicos. No entanto, os extratos mais polares, como os AEAC e AEME, apresentaram maior atividade antioxidante no FRAP, o que pode estar relacionado à presença de compostos como alcalóides indólicos e flavonoides, cuja estrutura química favorece a transferência de elétrons, contribuindo para a capacidade redutora no ensaio.à maior solubilidade de seus compostos antioxidantes nesses solventes.

Os resultados deste estudo apresentaram diferenças em relação aos obtidos por Santos (2016), que avaliou a atividade antioxidante *in vitro* da fração diclorometano de extratos de sementes de *A. pyrifolium* e encontrou uma capacidade inibitória de 83,68% para o radical DPPH•. Araújo (2022) observou que extratos e frações de *A. desmanthum*, *A. marcgravianum* e *A. nitidum* apresentaram baixos percentuais de inibição do DPPH•, comparados ao ácido gálico. O autor afirma que as espécies do gênero Aspidosperma são ricas em alcalóides indólicos, cuja síntese está relacionada ao estresse oxidativo. A baixa atividade antioxidante observada pode estar relacionada à relação

estrutura-atividade e à presença reduzida de grupos hidroxilas ligados ao anel aromático (Alves, 2010; Martins et al., 2018).

Santos *et al*. (2013) identificaram 20 espécies de Aspidosperma na floresta amazônica contendo alcalóides indólicos e exibindo potencial antioxidante. Araújo e Barros Viana (2020) identificaram alcalóides indólicos, taninos, flavonóides e quinonas em *A. pyrifolium*, indicando que compostos semelhantes podem estar presentes em *A. excelsum*. Estudos reportam a presença de compostos fenólicos e alcalóides em Aspidosperma spp. (Aquino, 2015; Lima, 2015; Pereira, 2015; Trindade et al., 2016; Santos, 2017; Tavares & Santana, 2013; Pereira et al., 2007), os quais são conhecidos por sua atividade antioxidante (Paula, 2008, p. 45).

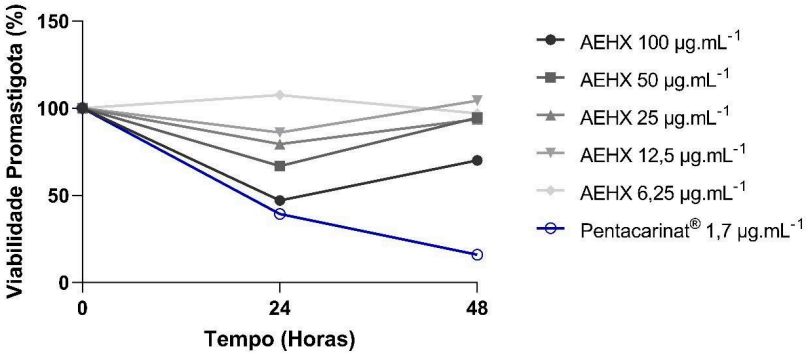
Os compostos fenólicos neutralizam radicais livres por doação de prótons, influenciando os métodos DPPH• e ABTS•+ (Azevedo et al., 2018). Compostos fenólicos possuem grupos hidroxilas na estrutura benzênica, permitindo reações redox com radicais livres (Silva et al., 2010; Hernández & Prieto Gonzáles, 1999; Chun et al., 2005). Alcaloides e flavonoides, frequentemente presentes em Aspidosperma, interagem com radicais livres por mecanismos SET (Transferência de Um Elétron) e HAT (Transferência de Átomo de Hidrogênio).

Fernandes (2019) avaliou a atividade antioxidante em outra espécie do gênero e observou alta capacidade sequestrante do radical DPPH• em extratos etanólicos. Este estudo corrobora tais achados, já que os extratos mais polares exibiram maior atividade antioxidante. O teor fenólico está diretamente ligado à capacidade sequestrante de radicais, com substâncias fenólicas apresentando maior afinidade por solventes polares.

5.4 Atividade antileishmania

O teste de atividade antileishmania dos extratos de *Aspidosperma excelsum* Benth frente o parasita *Leishmania* (*Viannia*) *guyanensis.*

Gráfico 1: Atividade antileishmania AEHX

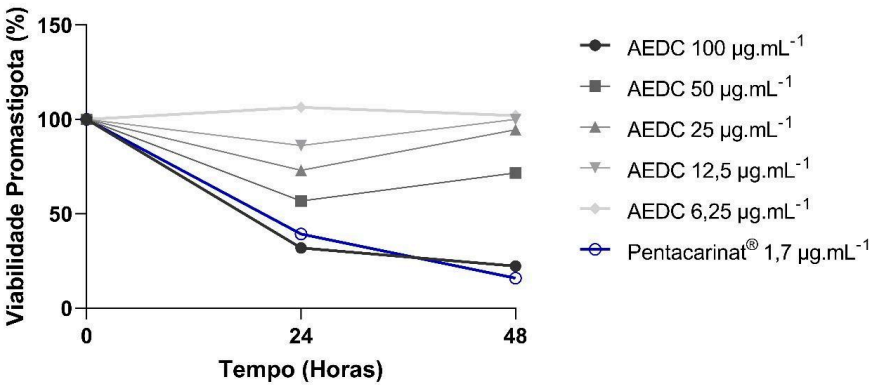


Fonte: A autora., (2025)

O gráfico 1 apresenta a viabilidade celular ao longo dos tempos de exposição do extrato frente às células de *Leishmania* (24 e 48 horas) usando as diferentes concentrações do extrato AEHX.

De acordo com a tabela 7, o valor de IC_{50} do AEHX foi de 88,16 µg/mL para o tempo de exposição de 24 horas e 141,3 µg/mL para o teste em 48 horas. Isso significa que, para reduzir a viabilidade celular em um percentual de 50%, é necessária uma concentração maior do extrato ao longo do tempo, o que nos permite uma menor eficácia citotóxica em um tempo de 48 horas comparado ao 24 horas. Como a IC_{50} aumentou em 48 horas, isso indica que a toxicidade do extrato pode ter diminuído em decorrência do tempo ou que as células podem ter desenvolvido alguma resistência ao extrato ao longo do tempo.

Gráfico 2: Atividade antileishmania AEDC

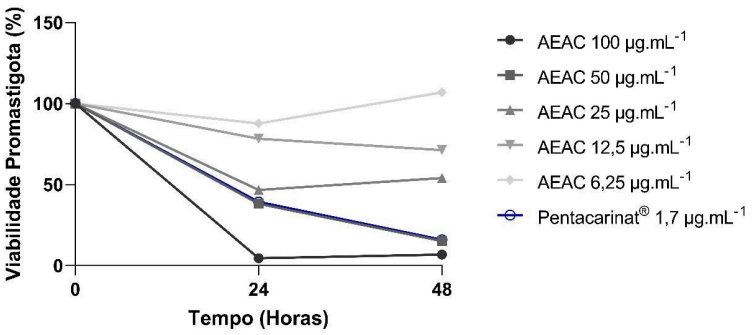


Fonte: A autora., (2025)

O gráfico 2 corresponde ao efeito leishmanicida do extrato AEDC de *Aspidosperma excelsum* Benth. O IC_{50} representa a concentração necessária para reduzir a viabilidade celular em 50%. Ao analisarmos o gráfico pode-se notar que em 24 horas que a IC_{50} foi de 57,9 µg/mL essa quantidade do extrato reduziu em 50% a viabilidade do parasita em um dia e em 48 horas a IC_{50} foi de 67,3 µg/mL isso indica que, com o tempo, uma concentração maior foi necessária para manter o mesmo efeito.

A elevação do IC_{50} após 48 horas sugere que o extrato apresentou baixa eficácia ao longo do tempo, podendo indicar um possível mecanismo de resistência ou adaptação do parasita frente ao extrato. O extrato AEDC de *Aspidosperma excelsum* Benth apresenta uma toxicidade relevante, já que os valores de IC_{50} são bem menores do que os do AEHX (extrato hexânico, que apresentou IC_{50} de 88,16 µg/mL em 24h e 141,3 µg/mL em 48h).

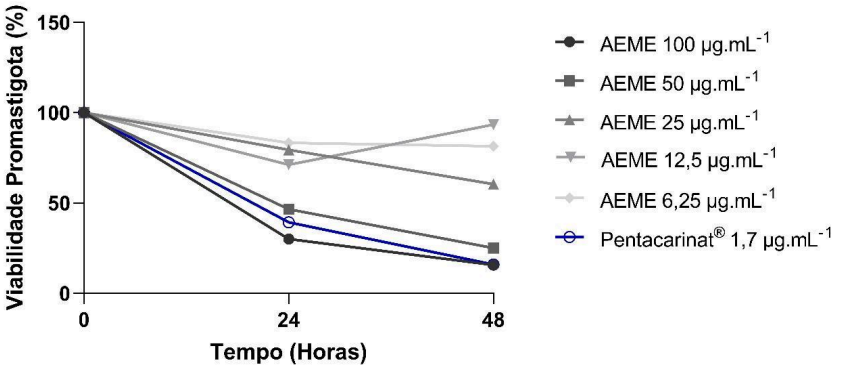
Gráfico 3: Atividade antileishmania AEAC



Fonte: A autora., (2025)

O gráfico 3 apresenta a viabilidade celular ao longo dos tempos (24h e 48h) para diferentes concentrações do extrato AEAC. Em 24 horas a IC_{50} foi de 26,8 µg/mL e em 48 horas a IC_{50} foi de 24,6 µg/mL. Estes resultados nos levam a afirmar que o extrato apresenta um efeito citotóxico significativo, com um IC_{50} relativamente baixo quando comparado aos outros extratos testados. Além disso, o leve decréscimo do IC_{50} de 24h para 48h sugere que o extrato mantém ou até melhora sua eficácia ao longo do tempo. No entanto, o AEAC ainda é menos potente que o Pentacarinat®, exigindo doses muito maiores para alcançar a dose ou efeitos similares.

Gráfico 4: Atividade antileishmania extrato metanólico AEME

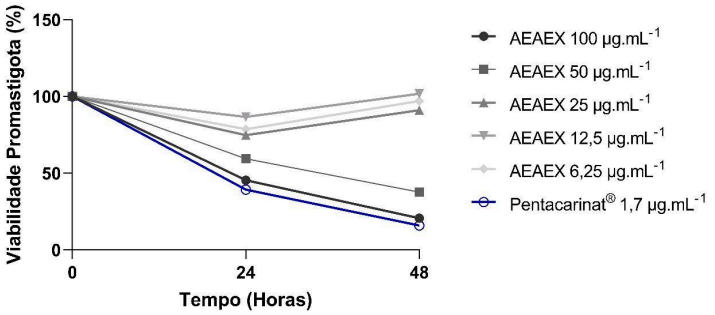


Fonte: A autora., (2025)

O extrato AEME de *Aspidosperma excelsum* Benth apresentou IC_{50} de 48,7 µg/mL no tempo de exposição de 24h e 31,4 µg/mL em 48h. A redução do IC_{50} ao longo do tempo nos leva a entender que o extrato se torna ainda mais eficaz a medida em que ocorre a exposição do extrato através do perfil dose-dependente.

As concentrações mais altas (100 e 50 µg/mL) causam uma maior redução na viabilidade celular dos parasitas. Com o tempo (24h e 48h), a viabilidade dos parasitas diminui para todas as concentrações, confirmando a tendência observada na tabela 7 (IC_{50} menor em 48h do que em 24h).

Gráfico 5: Atividade antileishmania Extrato Aquoso



Fonte: A autora., (2025)

O AEAEX apresenta uma IC_{50} elevada de (86 µg/mL em 24h e 46,5 µg/mL em 48h), indicando menor eficácia. O gráfico apresenta a viabilidade das promastigotas (%) ao longo do tempo (0h, 24h e 48h) para as diferentes concentrações do AEAEX (Extrato Aquoso) e do Pentacarinat® (1,7 µg/mL) como controle positivo. O gráfico nos mostra que, mesmo em altas concentrações, o AEAEX não reduz a viabilidade das promastigotas de forma tão expressiva quanto o Pentacarinat®.

A tabela 7 apresenta os resultados do teste de atividade antileishmania realizado com diferentes extratos de Aspidosperma excelsum Benth. Os valores expressos correspondem ao IC_{50} ($\mu g \cdot mL^{-1}$), ou seja, a concentração necessária para inibir 50% do crescimento do parasita Leishmania em dois tempos de avaliação: 24 horas e 48 horas.

Tabela 7: Teste de atividade leishmanicida dos extratos de *Aspidosperma excelsum* Benth.

	IC_{50} ($\mu g.mL^{-1}$)	
Amostra	**24h**	**48h**
AEHX	88,16	141,3
AEDC	57,9	67,3
AEAC	26,8	24,6
AEME	48,7	31,4
AEAEX	86	46,5
Pentacarinat®	0,4	0,1

Fonte: A autora., (2025)

Os extratos de *Aspidosperma excelsum* Benth apresentaram atividade antileishmania consideráveis, todavia apenas o extrato acetato de etila foi o que apresentou melhor potencial biológico, estes resultados foram similares aos obtidos por Estudos realizados por Veiga (2022), que avaliaram a atividade antileishmania dos constituintes químicos isolados de *Aspidosperma nitidum* frente ;à *Leishmania amazonensis*.

Os resultados do ensaio antileishmania dos extratos de *Aspidosperma excelsum* indicam que o extrato AEAC foi o mais promissor, com IC_{50} de 26,8 µg/mL e 24,6 µg/mL, seguida pelo extrato AEME, com valores de 48,7 µg/mL e 31,4 µg/mL. Quanto a atividade antileishmania pode-se afirmar que estes resultados podem estar relacionados à composição química dos extratos, especialmente pela presença de metabólitos fenólicos e antioxidantes, como sugerem os testes de fenóis totais (76,16 ± 2,77 mg GAE/g para AEAC e 92,11 ± 2,96 mg GAE/g para AEME). A capacidade antioxidante também foi destacada nos ensaios DPPH• e ABTS•+, com AEAC mostrando boa atividade (1351,2 ± 32 µM ET para DPPH•) e AEME se sobressaindo em fenóis totais, o que sugere que compostos como flavonoides e alcaloides podem atuar sinergicamente, contribuindo tanto para o estresse oxidativo quanto para a inibição direta do parasita.

Esses achados estão em consonância com estudos prévios que destacam o potencial antileishmania de espécies do gênero *Aspidosperma*, devido à presença de alcalóides e

outros metabólitos secundários com propriedades antiparasitárias. A diferença entre as frações pode refletir a concentração e o tipo de compostos ativos, sendo AEAC e AEME as que mais concentraram substâncias relevantes. Apesar de o padrão Pentacarinat® (IC_{50} de 0,4 µg/mL e 0,1 µg/mL) ainda apresentar eficácia superior, os resultados reforçam a relevância de *A. excelsum* como fonte de novos compostos bioativos.

Um estudo realizado por Chagas., (2024) utilizando metabólitos secundários de *Aspidosperma nitidum* Benth (Ex. Müll.Arg) por meio de docking molecular permitiu avaliar que outros compostos pertencentes à família Apocynaceae e gênero *Aspidosperma* como a Aspidospermina não sofre mecanismo de primeira passagem e são capazes de inibir CYPs (Kapetas *et al*., 2021).

Os alcalóides de plantas do gênero *Aspidosperma* possuem efeito tóxico associados diretamente com a concentração testada em experimentos. Um estudo realizado por Coatti *et al*., (2016) usando a Aspidospermina em 50 µM em modelos antiparasitários ocasionou a interrupção do ciclo celular, e a 100 µM do mesmo composto induziu apoptose através de uma resposta UPR (unfolded protein response) persistente.

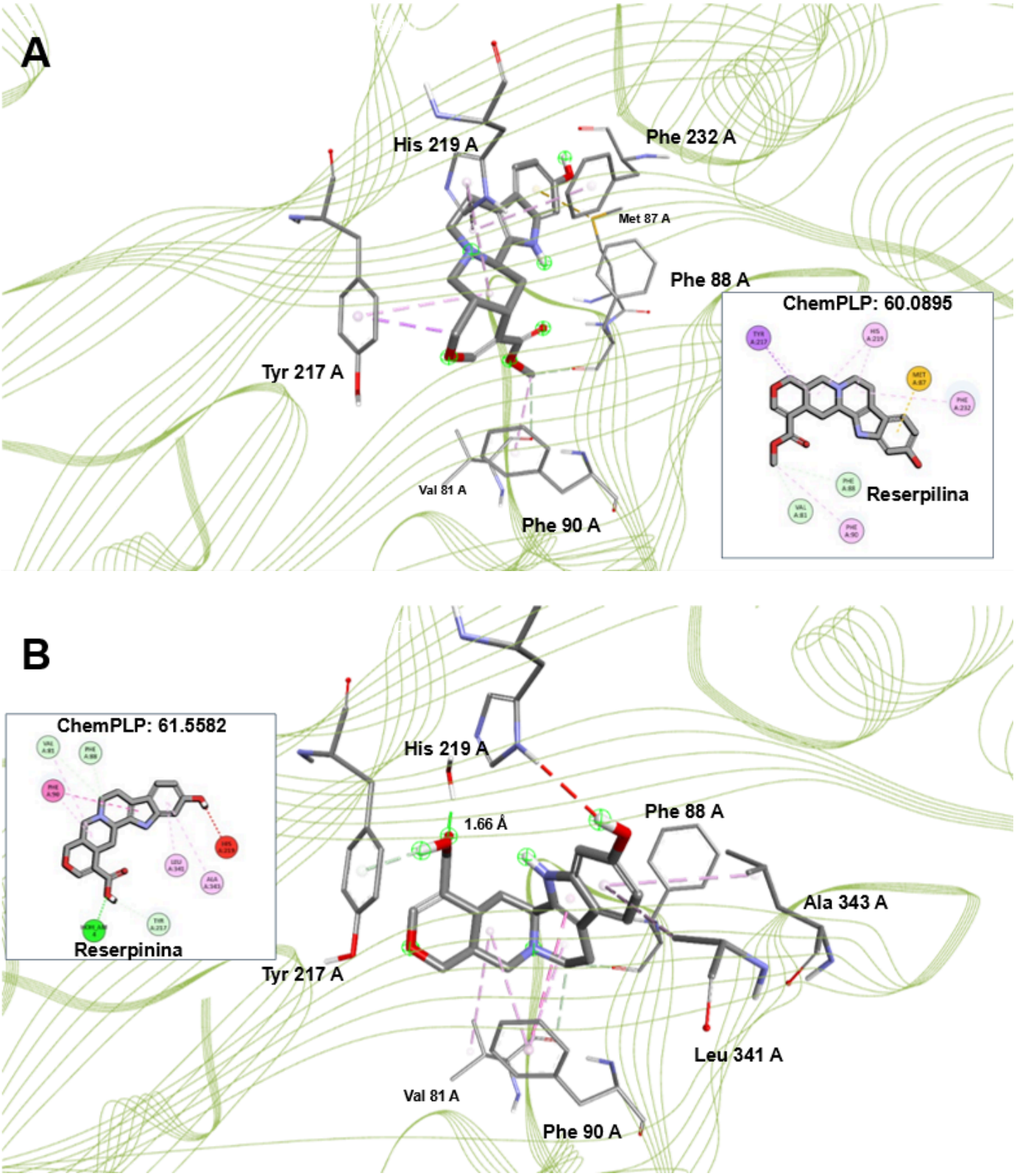
Estudos futuros para o isolamento e caracterização dos metabólitos responsáveis por essas atividades são essenciais para entender os mecanismos de ação e aprimorar o potencial terapêutico desses extratos.

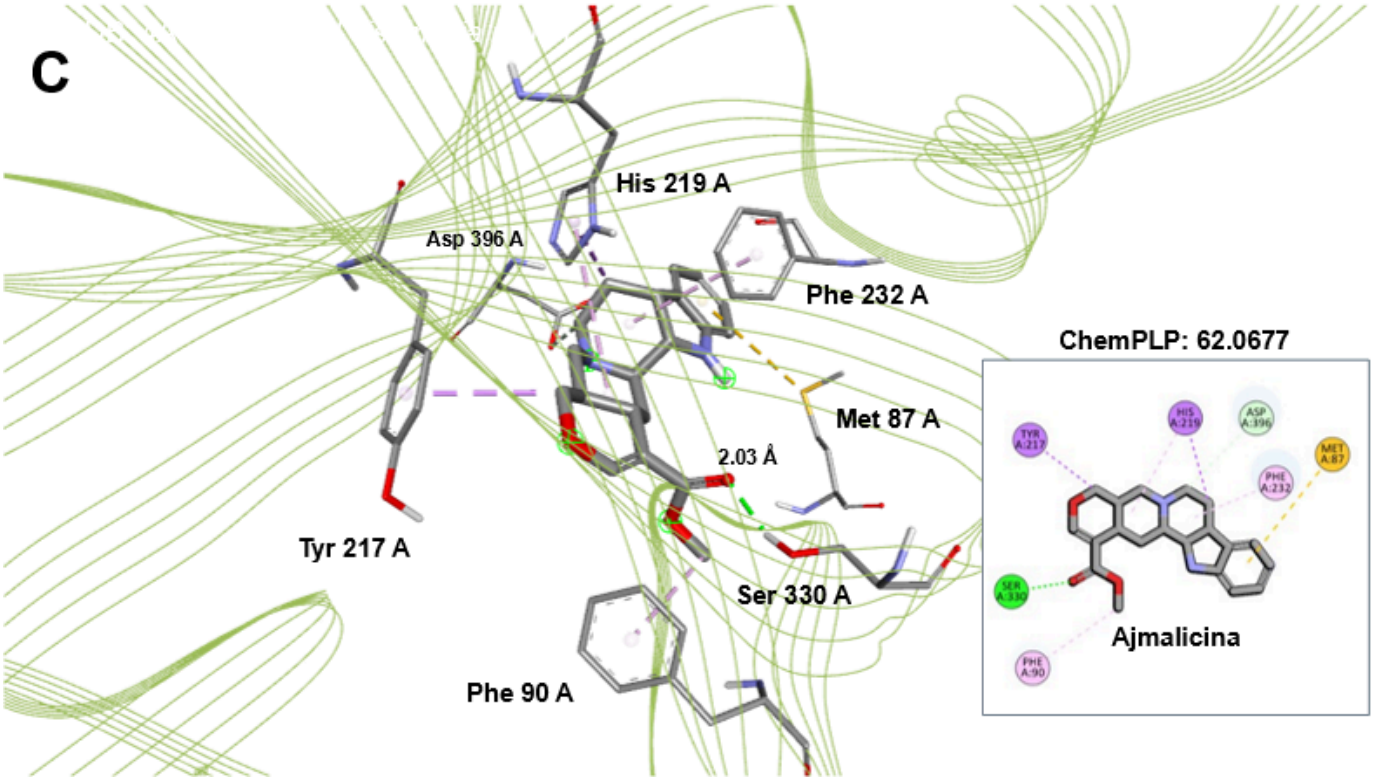
5.5 Hipóteses para possível mecanismo de ação

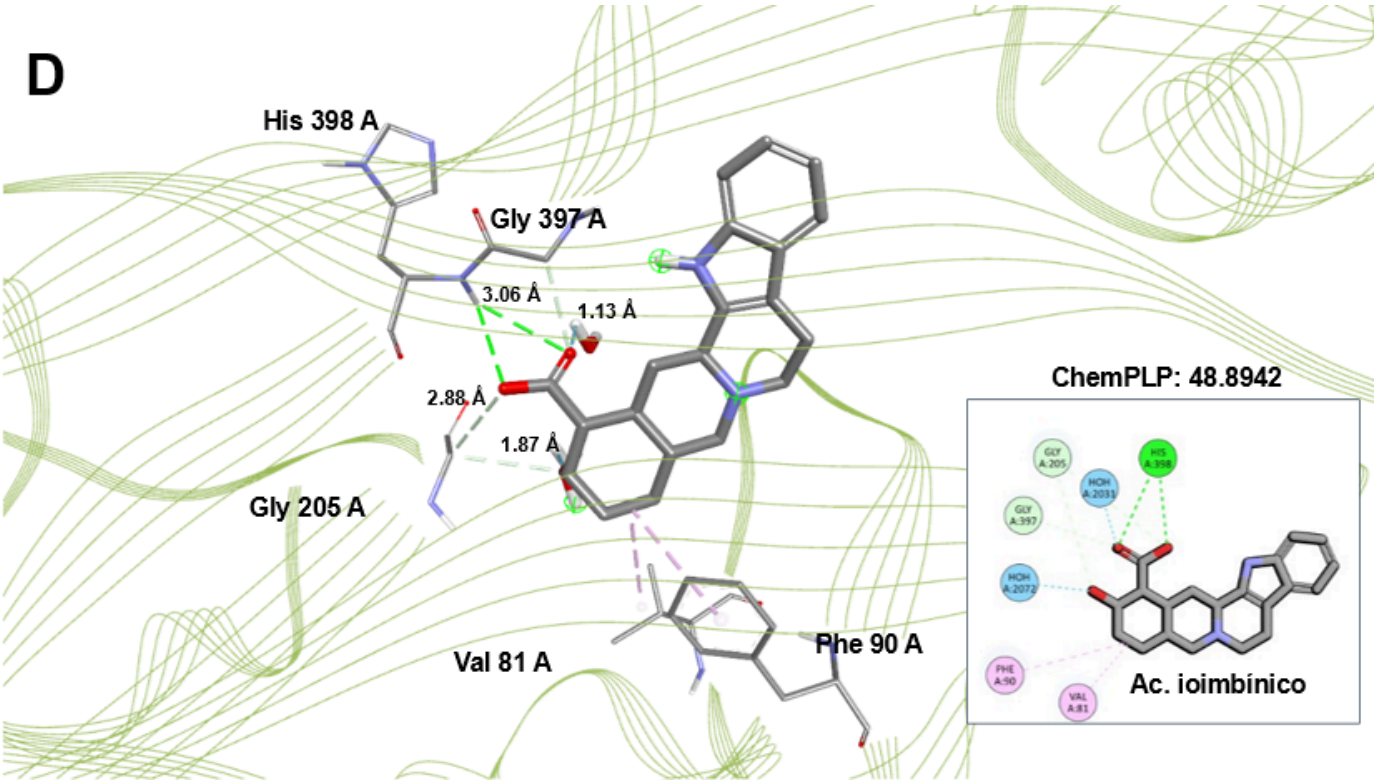
Estudos complementares (realizados em ensaios no alvo, via *docking* molecular) indicam que alcaloides como a aspidospermina podem desempenhar papel relevante. Um desses alvos possivelmente relacionados com a atividade antiparasitária de alcaloides trata-se da N-myristoyl transferase. Essa enzima tem como função catalisar o processo de transferência de grupos miristoil para cadeias N-terminais contendo um resíduo de glicina. Essa transferência auxilia no ancoramento de proteínas à membrana plasmática do parasita ou a outras proteínas contendo domínios complementares ao grupo transferido, sendo essa conexão essencial para a transdução de sinal. Uma vez que esse alvo apresenta um potencial no que tange à busca por substâncias com atividade antileishmania (Ogungbe; NG; Setzer, 2013), realizamos um estudo de docking molecular com as substâncias descritas para os extratos que apresentaram os melhores resultados de IC_{50} (AEAC e AEME). Dessa forma, a figura abaixo mostra os resultados encontrados para 6 (Reserpilina, Reserpinina, Ioimbina, 11-metoxi-ioimbina, Ácido

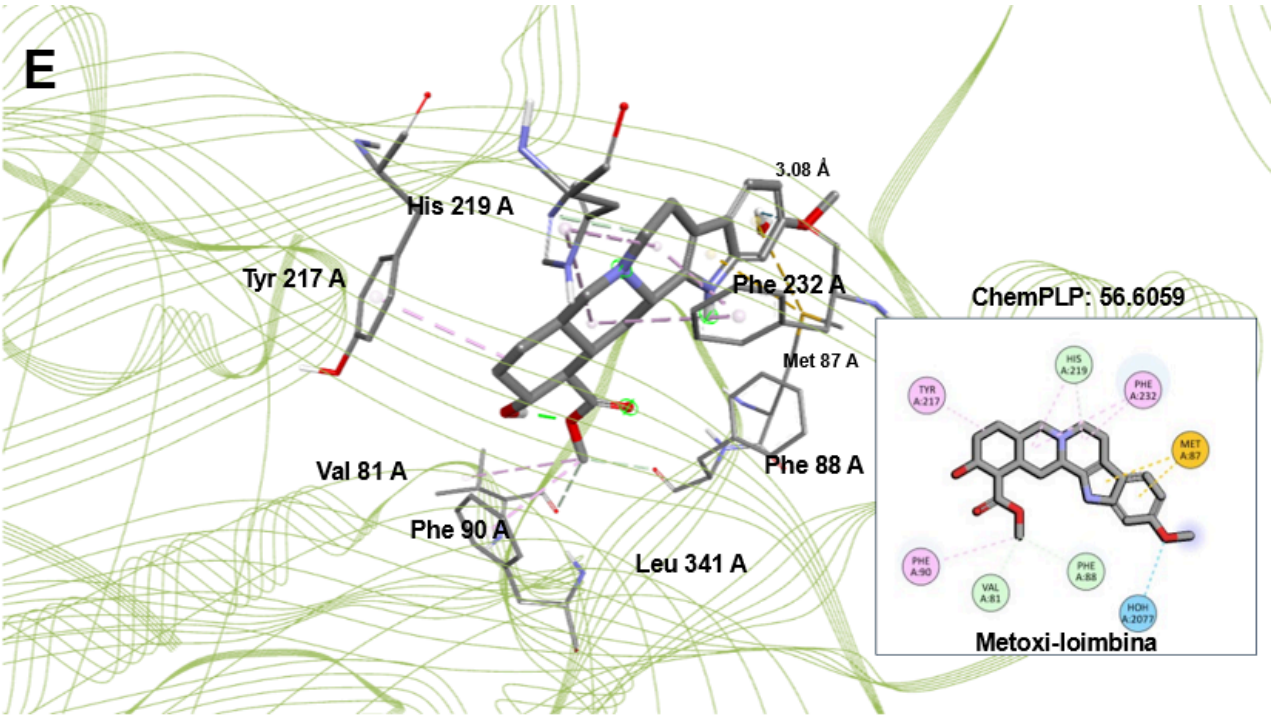
ioimbínico e Ajmalicina) dos 10 metabólitos.

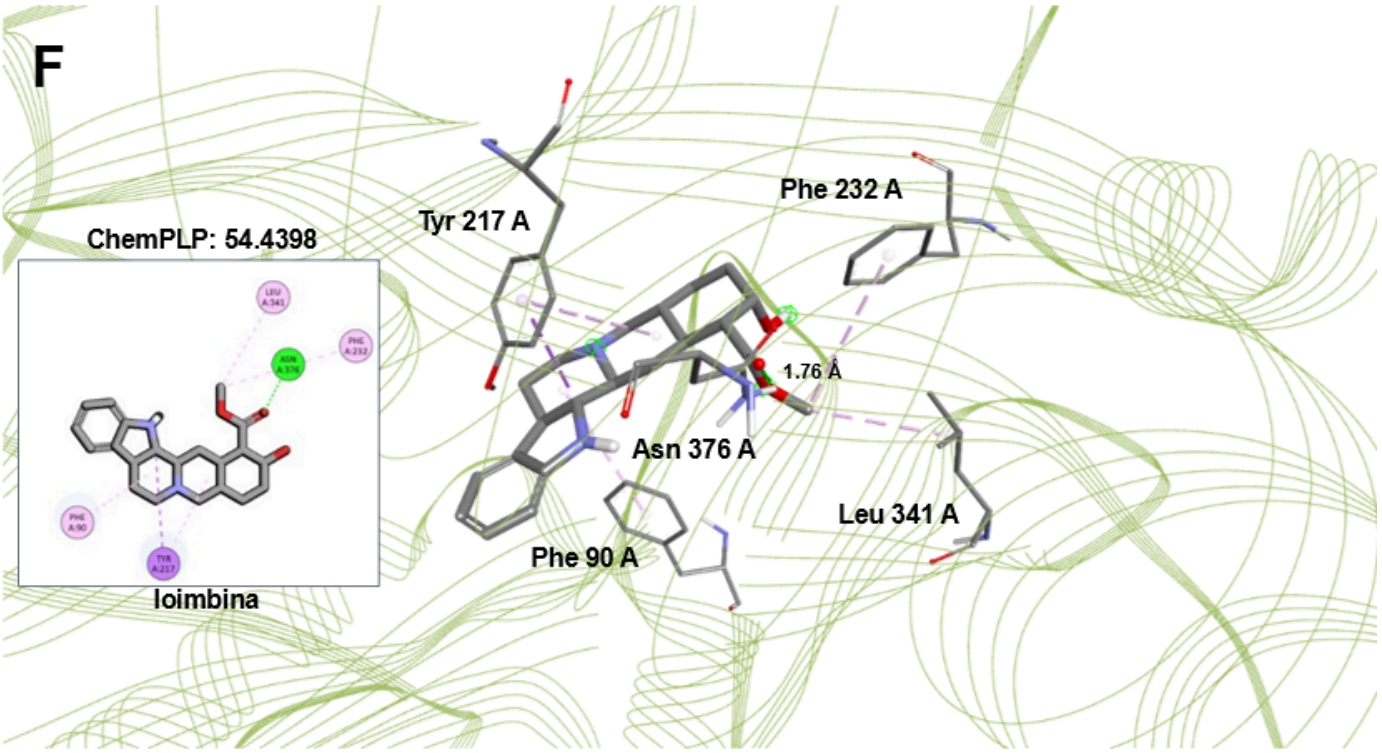
Figura 21. (A-F). Docking molecular dos metabólitos descritos nos extratos AEME e AEAC em NMT (PDB: 4A30).




C
His 219 A
Asp 396 A
Phe 232 A
ChemPLP: 62.0677
Met 87 A
2.03 Å
Tyr 217 A
Ser 330 A
Phe 90 A
Ajmalicina


D
His 398 A
Gly 397 A
3.06 Å
1.13 Å
2.88 Å
1.87 Å
ChemPLP: 48.8942
Gly 205 A
Val 81 A
Phe 90 A
Ac. ioimbínico





Observação: cor verde – interação de hidrogênio; cor rosa – interações de van der Waals com grupos alquílicos; cor roxa – interação de van der Waals com resíduos aromáticos; interação de van der Waals com resíduos contendo átomos de enxofre; cor vermelha – interações repulsivas (B).

Como é possível observar, todos os metabólitos apresentam uma elevada relação estrutural entre si, sendo possível, portanto, estabelecer uma relação entre cada estrutura química com a promoção de interações complementares com o sítio investigado nesse ensaio teórico para a enzima NMT. Nesse sentido, uma vez que as interações com os resíduos foram similares (devido às semelhanças estruturais entre esses metabólitos), a discussão será realizada considerando os metabólitos hipoteticamente como uma série congênere, de modo a garantir uma compreensão de como modificações sutis podem afetar tais interações no sítio escolhido.

Reserpilina, reserpinina e ajmalicina

Em relação à reserpilina e seu análogo demetilado (reserpinina), é possível perceber como a retirada do grupo CH3 acaba exercendo um papel importante, uma vez que essa ausência resulta na promoção de interações de hidrogênio com uma molécula de água (que faz parte da rede de moléculas ancorada a aminoácidos polares dessas cavidades, como por exemplo a própria His 219 A). Contudo, essa retirada também tem como consequência a redução de interações de van der Waals com resíduos polarisáveis (Met 87A) que interagiram com o metabólito esterificado (reserpilina (A)). Além disso, é possível visualizar que a retirada do grupo CH3 pode ter sido um fator chave na mudança conformacional a ponto de promover interações repulsivas entre o resíduo de His 219 A com a hidroxila fenílica da reserpinina (B). No geral, ambos os metabólitos parecem não exercer um papel tão relevante no que tange à promoção de interações eletrostáticas de maior relevância, como aquelas descritas para o ligante co-cristalizado (QMI), que, mesmo sendo uma molécula relativamente pequena (quando comparada aos metabólitos avaliados), é capaz de promover múltiplas interações de hidrogênio clássicas com o resíduo de Ser 330 A e com moléculas de água (material suplementar), sendo essas entidades moleculares importantes para o aumento de potência de inibidores de NMT (Brand et al., 2012). De forma diametralmente oposta, a ajmalicina (análogo não hidroxilado da reserpilina) foi capaz de promover, além da manutenção de interações com o resíduo de Met 87 A, interações adicionais com o resíduo de Asp 396 e em especial com o resíduo chave de Ser 350 A. Esse achado torna essa molécula um metabólito promissor para investigações posteriores.

Ioimbina, ácido ioimbínico e metóxi-ioimbina

Em relação a esses três metabólitos, há um padrão de contribuição que se assemelha aos três metabólitos anteriores. Novamente, o metabólito considerado hipoteticamente (para fins de argumentação) como a molécula mais simples do ponto

de vista estrutural (ácido ioimbínico) parece promover interações mais relevantes em termos de complementariedade molecular. Isso era esperado uma vez que a presença do grupo ácido carboxílico na biofase tem como consequência a formação de uma base conjugada que interage de maneira bastante eficiente (do ponto de vista termodinâmico) com resíduos polares de caráter básico (como é o caso para o hidrogênio amínico do resíduo de His 398 A) bem como as moléculas de água que fazem parte dessa cavidade da NMT. Contudo, cabe mencionar que as interações promovidas pelos outros dois metabólitos, embora menos relevantes (considerando o mesmo critério da complementaridade), também merecem ser destacadas uma vez que foi possível observar interações de hidrogênio ainda que em menor número.

Dito isso, considerando todos os 6 metabólitos avaliados in silico, consideramos que os metabólitos ajmalicina e ácido ioimbínico parecem promover interações mais favoráveis com a NMT. Esse resultado estimula a realização de novos estudos (considerando, por exemplo, estes metabólitos isolados) que permitam a construção de uma prova de princípio, trazendo ainda mais evidências que possam futuramente ser utilizadas para correlação com dados de atividade encontrados para as frações metanólicas e de acetato de etila encontrados nessa pesquisa.

6. CONCLUSÕES

O presente estudo investigou a atividade antioxidante e antileishmania dos extratos de *Aspidosperma excelsum* Benth., permitindo uma avaliação comparativa entre os diferentes solventes de extração e sua influência sobre a bioatividade dos compostos obtidos.

Os extratos de *A. excelsum* analisados por espectrometria de massas com ionização por ESI-MS permitiram a identificação de diversos alcalóides indólicos e outros metabólitos. A reserpilina foi identificada exclusivamente no extrato AEME, enquanto a 11-metoxi-ioimbina foi encontrada nos extratos AEDC, AEAC e AEME. A reserpinina foi detectada nos extratos AEAC e AEME. A ioimbina esteve presente em AEDC, AEAC, AEME e AEAEX, e a ajmalicina foi identificada nos extratos AEDC, AEAC, AEME e AEAEX.

O ácido iombínico foi encontrado em AEDC, AEAC e AEME. O 10-metóxidihidrocorinanteol foi identificado em AEDC, AEAC, AEME e AEAEX, enquanto o corinanteidol foi exclusivo dos extratos AEDC e AEAEX. Por fim, o ácido quiníco foi encontrado apenas no extrato AEAEX. A presença desses compostos sugere que os alcalóides indólicos desempenham um papel central na atividade

antioxidante observada, especialmente nos extratos mais polares, que apresentaram maior atividade antioxidante no ensaio FRAP.

Os testes antioxidantes (DPPH•, ABTS•+, FRAP e Fenóis Totais) demonstraram que o extrato AEME apresentou a maior capacidade antioxidante em todas as metodologias aplicadas, indicando uma maior concentração de compostos bioativos responsáveis pela neutralização de radicais livres e potencial redutor. O extrato AEAC também se destacou, especialmente nos testes de ABTS•+ e FRAP, corroborando sua elevada capacidade antioxidante. Considerando a elevada capacidade antioxidante observada, buscou-se investigar se esses extratos também apresentariam atividade biológica frente a *Leishmania spp*.

No ensaio de atividade antileishmania, o extrato AEAC apresentou a melhor resposta, com valores de IC_{50} de 26,8 µg/mL em 24 horas e 24,6 µg/mL em 48 horas, sugerindo um alto potencial como candidato para novos estudos de desenvolvimento de fármacos antileishmania. O extrato AEME também demonstrou uma atividade relevante, principalmente após 48 horas, reforçando a presença de compostos biologicamente ativos nesses extratos.

A análise *in silico* dos seis metabólitos evidenciou que pequenas diferenças estruturais podem impactar significativamente as interações com a enzima NMT. Entre os compostos avaliados, a ajmalicina e o ácido ioimbínico se destacaram por promoverem interações mais favoráveis e complementares no sítio ativo, sugerindo seu potencial como moléculas promissoras para investigações futuras.

Esses resultados fornecem uma base teórica importante para o planejamento de estudos experimentais que correlacionem a atividade biológica observada nas frações metanólicas e de acetato de etila com os metabólitos isolados, reforçando o potencial farmacológico de *Aspidosperma excelsum* Benth. Os achados sugerem que seus extratos podem constituir fontes promissoras de antioxidantes naturais e compostos com atividade antileishmania. Dessa forma, este estudo abre caminho para investigações futuras voltadas ao isolamento e caracterização dos princípios ativos responsáveis por essas atividades, bem como à avaliação de sua segurança e eficácia em modelos experimentais mais avançados.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLEN, J. R. F.; HOLMSTEDT, B. R. The simple β-carboline alkaloids. Phytochemistry, v. 19, n. 8, p. 1573–1582, 1980.

ALVES, C. Q. et al. Methods for determination of in vitro antioxidant activity for extracts and organic compounds. Química Nova, v. 33, n. 10, p. 2202–2210, 2010.

AMORIM, I. L.; SAMPAIO, E. V. S. B.; ARAÚJO, E. L. Flora e estrutura da vegetação arbustiva-arbórea de uma área de caatinga do Seridó, RN, Brasil. Acta Botanica Brasilica, v. 19, n. 3, p. 615–623, 2005.

AQUINO, R. E. Variação nas concentrações de compostos fenólicos e nas taxas de herbivoria em Aspidosperma pyrifolium Mart. em áreas antropizadas de Caatinga. 2015. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brasil.

ARAÚJO, B. R. de O. Investigação do perfil de alcaloides de espécies de Aspidosperma ssp por LC-MS. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Amazonas, 2022.

BARBOSA, L. A. et al. Spatial analysis of American cutaneous leishmaniasis in the state of Amazonas. ResearchGate, 2024. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/380034788 . Acesso em: 15 ago. 2025.

BARROSO, G. M.; MORIM, M. P.; PEIXOTO, A. L.; ICHASO, C. L. F. Sistemática de Angiospermas do Brasil. 3. ed. Rio de Janeiro: Editora UFRJ, 2020.

BATISTA, M. O.; SILVA, D. L.; RAMOS, D. V. B. Quantificação do potencial antioxidante de plantas medicinais comercializadas em Porto Velho/RO: quantification of the antioxidant potential of medicinal plants sold in Porto Velho/RO. Brazilian Journal of Development, v. 8, n. 12, p. 77913–77931, 2022.

BHARADAVA, K.; UPADHYAY, T. K.; KAUSHAL, R. S.; AHMAD, I.; ALRAEY, Y.; SIDDIQUI, S.; SAEED, M. J. A. O. Genomic insight of Leishmania parasite: in-depth review of drug resistance mechanisms and genetic mutations. Saudi Journal of Biomedical Research, v. 9, n. 11, p. 12500–12514, 2024.

BITWELL, C.; SEN, S. I.; LUKE, C.; KAKOMA, M. K. UHPLC-MS/MS phytochemical screening, polyphenolic content and antioxidant potential of Diplorhynchus condylocarpon (Müll.Arg.) Pichon (Apocynaceae), a medicinal plant. Scientific African, v. 20, p. e01712, 2023.

BOLZANI, V. S. Biodiversidade, bioprospecção e inovação no Brasil. Ciência & Cultura, v. 68, n. 1, p. 4–5, 2016.

BOLZANI, V. S. et al. Alkaloids from Apocynaceae species: structural diversity and pharmacological potential. Phytochemistry Reviews, v. 21, p. 523–547, 2022.

BRAND, S. et al. Discovery of a novel class of orally active trypanocidal 58 N-myristoyltransferase inhibitors. Journal of Medicinal Chemistry, v. 55, n. 1, p. 140–152, 2012.

BRASIL. Agenda Nacional de Prioridades de Pesquisa em Saúde: Doenças Tropicais Negligenciadas. Brasília: Ministério da Saúde, 2021.

BRASIL. Diretrizes para Pesquisa e Desenvolvimento em Recursos Genéticos. Brasília: Ministério da Saúde, 2025.

BRASIL. Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar. Brasília: Ministério da Saúde, 2017.

BRASIL. Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar. Brasília: Ministério da Saúde, 2023.

BRASIL. Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. Brasília: Ministério da Saúde, 2006.

BRASIL. Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS (PNPIC). Brasília: Ministério da Saúde, 2025.

BRASIL. Portaria nº 56, de 31 de outubro de 2018. Diário Oficial da União.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Articulação Estratégica de Vigilância em Saúde. Guia de Vigilância em Saúde [online]. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Relação Nacional de Medicamentos Essenciais: RENAME 2020. Brasília: MS, 2020. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/relacao_medicamentos_rename_2020.pdf . Acesso em: 26 out. 2025.

BRASIL. Ministério da Saúde. Relação Nacional de Medicamentos Essenciais – RENAME 2024. Brasília: Ministério da Saúde, 2024. Disponível em: https://www.gov.br/saude . Acesso em: 26 out. 2025.

BHARADAVA, K. et al. (repetido, já listado acima, pode ser excluído se for duplicado)

BRÍGIDO, R. T. et al. Antileishmanial activity of Aspidosperma nitidum alkaloid fractions in experimental infection by Leishmania amazonensis. Journal of Ethnopharmacology, v. 314, p. 117–125, 2024.

CA, J.; KUMAR, P. V. B.; KANDI, V.; NG, J.; K, S.; DHARSHINI, D.; BATCHU, S. V. C.; BHANU, P. Neglected tropical diseases: a comprehensive review. Cureus, v. 16, n.

2, e53933, 2024. DOI: 10.7759/cureus.53933. PMID: 38468991; PMCID: PMC10925483.

CARNEIRO, D. F. et al. Antimalarial activity of indole alkaloids from Brazilian Apocynaceae species. Journal of Ethnopharmacology, v. 306, 2023.

CHAGAS, S. K. C. Atividade antileishmania de alcaloides de Aspidosperma nitidum Benth (Ex. Müll.Arg) e possíveis mecanismos de ação. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), 81 p., 2024.

COATTI, G. C. et al. Cytotoxicity, genotoxicity and mechanism of action (via gene expression analysis) of the indole alkaloid aspidospermine (antiparasitic) extracted from Aspidosperma polyneuron in HepG2 cells. Cytotechnology, v. 68, n. 4, p. 1161–1170, 2016.

CORRÊA, M. P. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, v. 2, 1931. 771 p.

CUNHA, A. C. et al. Anti-leishmanial activity of alkaloidal extracts obtained from different organs of Aspidosperma ramiflorum. Phytomedicine, v. 19, p. 413–417, 2012.

DE ARAÚJO, D. P.; DE BARROS VIANA, G. S. Aspidosperma pyrifolium Mart. antioxidants features and neuronal tissues. In: Oxidative Stress and Dietary Antioxidants in Neurological Diseases. Academic Press, 2020. p. 189–198.

DO SOCORRO SILVA DA VEIGA, A. et al. Activity of alkaloids from Aspidosperma nitidum against Leishmania (Leishmania) amazonensis. Scientific Reports, v. 12, n. 1, p. 8662, 2022.

DUKE, J. A.; VÁSQUEZ, R. Amazonian Ethnobotany. New York: CRC Press, 1994.

ELDIN, S.; DUNFORD, A. A. Fitoterapia na atenção primária à saúde. São Paulo: Editora Malone, 2001.

ENDRESS, M. E.; SCHNITTLER, M.; BAYER, C. Apocynaceae: diversity and evolution of a major tropical family. Taxon, v. 67, n. 2, p. 347–366, 2018.

FERNANDES, P. R. D.; BIZERRA, A. M. C. Avaliação quantitativa de atividades antioxidantes das plantas nativas da região do Alto Oeste Potiguar/RN. Research, Society and Development, v. 9, n. 2, art. 76, 2020.

FERREIRA NETO, P. T. P.; SANTOS, T. R.; TELLIS, C. J. M. Desenvolvimento de novos derivados de plantas medicinais para doenças negligenciadas: uma análise bibliométrica. Revista Fitos, Rio de Janeiro, supl. v. 2, p. 267–292, 2022.

FIRMO, W. C. A. et al. Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais. Especial, v. 18, São Luís, 2011.

FIRMO, W. C. A. et al. Plantas medicinais utilizadas na medicina tradicional afro-brasileira e popular: um estudo etnobotânico no Estado do Amazonas. Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 21, n. 2, p. 317–329, 2011.

FORZZA, R. C. et al. Growing knowledge: an overview of seed plant diversity in Brazil. Rodriguésia, 2015.

FOURNET, A.; MUÑOZ, V. Natural products as trypanocidal, antileishmanial and antimalarial drugs. Current Topics in Medicinal Chemistry, v. 2, n. 11, p. 1215–1237, 2002.

FRANÇA, I. S. X. et al. Medicina popular: benefícios e malefícios das plantas medicinais. Campina Grande: [s.n.], 2007.

FRONTIERS IN PHARMACOLOGY. Natural products as potential antileishmanial agents: advances and perspectives. Frontiers in Pharmacology, v. 16, p. 143–159, 2025.

GILBERT, B. Um estudo fitoquímico do gênero Aspidosperma. Anais da Academia Brasileira de Ciências, v. 38, supl., p. 315–319, 1966.

GOMES, L. F. dos S. et al. Abordagem fitoquímica, determinação da atividade antiplasmódica in vitro e avaliação preliminar da toxicidade do extrato hidroetanólico das cascas de Aspidosperma excelsum Benth (Apocynaceae). 2011.

GONTIJO, C. M. F.; MELO, M. N. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. Revista Brasileira de Epidemiologia, v. 7, n. 3, p. 338–349, 2004.

GONÇALVES, C. B. et al. O uso de Aspidosperma sp. (carapanaúba), na prevenção e tratamento da malária, no município de São Gabriel da Cachoeira-AM. 2019.

GUZMÁN-RIVERA, C. A. et al. Natural compounds against Leishmania spp.: recent advances and future perspectives. Phytomedicine, v. 115, p. 154–172, 2023.

HASENCLEVER, L.; PARANHOS, J.; PIQUET, R. Inovação e sustentabilidade: desafios para a Amazônia. Ciência & Cultura, v. 69, n. 3, p. 42–47, 2017.

HENDRICKX, S.; CALJON, G.; MAES, L. Need for sustainable approaches in antileishmanial drug discovery. Parasitology Research, v. 118, n. 10, p. 2743–2752, 2019.

HENRIQUE, M. C.; NUNOMURA, S. M.; POHLIT, A. M. Alcaloides indólicos de cascas de Aspidosperma vargasii e A. desmanthum. Química Nova, v. 33, p. 284–287, 2010.

HENRIQUES, A. T. et al. Antiprotozoal activity of alkaloids from Brazilian Apocynaceae. Natural Product Research, v. 37, n. 12, p. 2125–2134, 2023.

HIDALGO, A. F. Plantas Medicinais na Amazônia: contribuição para o uso sustentável da biodiversidade. Manaus: INPA, 2003.

HILAL-DANDAN, R.; BRUNTON, L. Goodman and Gilman Manual of Pharmacology and Therapeutics. 2. ed. Philadelphia: McGraw Hill Professional, 2013.

HILAL-DANDAN, R.; BRUNTON, L. L. Goodman & Gilman: As Bases Farmacológicas da Terapêutica. 12. ed. São Paulo: McGraw-Hill, 2013.

HOTEZ, P. J. et al. Eliminating the neglected tropical diseases: translational science and new technologies. PLoS Neglected Tropical Diseases, v. 10, n. 3, p. e0003895, 2016.

IBGE. Amazônia Legal: aspectos geográficos e socioeconômicos. Rio de Janeiro: IBGE, 2021.

IBGE. Indicadores ambientais e sustentabilidade na Amazônia Legal. Rio de Janeiro: IBGE, 2022.

IBGE. Amazônia Legal (quadro geográfico). Rio de Janeiro: IBGE, 2022. Disponível em: https://www.ibge.gov.br/apps/quadrogeografico/pdf/2022_040_amazleg.pdf . Acesso em: 22 ago. 2025.

KAPETAS, A. J. et al. Evidence-based guidelines for drug interaction studies: model-informed time course of intestinal and hepatic CYP3A4 inhibition by clarithromycin. AAPS Journal, v. 23, n. 5, 104, 2021.

KFFURI, C. W. et al. Fitonímia Nheengatu de plantas utilizadas no tratamento da malária no Alto Rio Negro – Amazônia brasileira. Ethnoscientia, v. 5, n. 1, 2020.

KOCH, I. et al. Apocynaceae. In: Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro.

KOEHN, F. E.; CARTER, G. T. The evolving role of natural products in drug discovery. Nature Reviews Drug Discovery, v. 4, p. 206–220, 2005.

KUMAR, S. et al. Structural characterization of monoterpene indole alkaloids in ethanolic extracts of Rauwolfia species by liquid chromatography with quadrupole time-of-flight mass spectrometry. Journal of Pharmaceutical Analysis, v. 6, n. 6, p. 363–373, 2016.

LIMA, M. C. J. S. Análise fitoquímica e avaliação das atividades anti-inflamatória, antipeçonhenta e citotóxica de extratos aquosos de Aspidosperma pyrifolium e Ipomoea asarifolia. 2015. Tese (Doutorado em Botânica) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, RN, Brasil.

LOPES, J. F. Ioimbina e uleína isolados de Himatanthus lancifolius (Muell. Arg.) Woodson, Apocynaceae. 2008. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) –

Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

LORENZI, H. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 2. ed. São Paulo: Instituto Plantarum, 1998. 352 p.

LUCA, V.; LAFLAMME, P. The expanding universe of alkaloid biosynthesis. Physiology and Metabolism, v. 4, p. 225–233, 2001.

LUCA, V.; PIERRE, B. S. The cell and developmental biology of alkaloid biosynthesis. Trends in Plant Science, v. 5, p. 168–173, 2000.

MACHADO, P. R. L. et al. A double-blind, randomized trial to evaluate miltefosine vs antimony for the treatment of cutaneous leishmaniasis caused by Leishmania (V.) braziliensis in Brazil. Clinical Infectious Diseases, v. 73, n. 4, p. e995–e1003, 2021. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32894278/ . Acesso em: 26 out. 2025.

MARTINS, G. V. et al. Estudo químico e avaliação das atividades antioxidante, antiacetilcolinesterase e antileishmanial de extratos de Jatropha gossypifolia L. (Pião Roxo). Revista Virtual de Química, v. 10, n. 1, p. 21–36, 2018.

MEJIA, K.; RENGIFO, E. Plantas medicinales de uso popular en la Amazonía Peruana. 2. ed. Lima: Tarea Asociación Gráfica Educativa, 2000. 286 p.

MIET, C.; CROQUELOIS, G.; POISSON, J. Structure de deux methoxy-yohimbines, isolées de Rauwolfia capuroni. Phytochemistry, v. 16, n. 6, p. 803–805, 1977.

MORALES, F. Estudios en las Apocynaceae neotropicales XIX: La familia Apocynaceae S. STR. (Apocynoideae, Rauvolfioideae) de Costa Rica. Darwiniana, v. 43, n. 1-4, p. 90–191, 2005.

NUNES, F. et al. Série histórica com o panorama da leishmaniose tegumentar americana no Amazonas com enfoque no número de casos ocorridos em área rural. ResearchGate, 2024.

OGUNGBE, I. V.; NG, J. D.; SETZER, W. N. Interactions of antiparasitic alkaloids with Leishmania protein targets: a molecular docking analysis. Future Medicinal Chemistry, v. 5, n. 15, p. 1777–1799, 2013.

OLIVEIRA, G. L. S.; SILVA, A. P. S. C. L. (orgs.). Produtos naturais com implicações na farmacologia. Ponta Grossa: Atena, 2023.

OLIVEIRA, V. B. et al. Atividade biológica e alcaloides indólicos do gênero Aspidosperma (Apocynaceae): uma revisão. Revista Brasileira de Plantas Medicinais, v. 11, n. 1, p. 92–99, 2009.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE – OMS. Resposta global ao controle de vetores 2017-2030 [online].

PAULA, A. A. Caracterização físico-química e avaliação do potencial antioxidante dos frutos da Terminalia catappa Linn. 2008. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, BA, Brasil.

PEREIRA, B. Radicais livres de oxigênio e sua importância para a funcionalidade imunológica. Motriz, v. 2, n. 2, p. 71–79, 1996.

PEREIRA, J. C. S. Estudo alelopático, fitoquímico e genotóxico de extratos aquosos de Aspidosperma pyrifolium Mart. e Combretum leprosum Mart. em Allium cepa. 2015. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, RN, Brasil.

PEREIRA, M. M. et al. Alcaloides indólicos isolados de espécies do gênero Aspidosperma (Apocynaceae). Química Nova, v. 30, n. 4, p. 980–983, 2007.

PEREIRA, M. M. et al. Uso tradicional de Aspidosperma spp. e perspectivas farmacológicas. Revista Fitos, v. 3, n. 1, p. 45–53, 2007.

PEREZ, D. Etnobotánica medicinal y biocidas para malaria en la región Ucayali. Folia Amazónica, v. 13, p. 87–108, 2002.

PETTERSEN, E. F. et al. UCSF Chimera — a visualization system for exploratory research and analysis. Journal of Computational Chemistry, v. 25, n. 13, p. 1605–1612, 2004.

PORTAL AFYA. Leishmaniose tegumentar americana: quando optar por tratamento intralesional. 2020. Disponível em: https://portal.afya.com.br/dermatologia/leishmaniose-tegumentar-americana-quando-optar-por-tratamento-intralesional . Acesso em: 21 ago. 2025.

QUINET, A. Taxonomia e distribuição do gênero Aspidosperma Mart. & Zucc. (Apocynaceae) na Amazônia brasileira. Acta Botanica Brasilica, v. 16, n. 4, p. 439–452, 2002.

RANDAU, K. P.; SÁ, R. D.; SILVA, F. R. Survey of the Apocynaceae family in the state of Pernambuco. Observatório de la Economía Latinoamericana, v. 22, n. 1, p. 1682–1695, 2024.

REIS, A. R. S. Anatomia da madeira de quatro espécies de Aspidosperma Mart. & Zucc. comercializadas no estado do Pará, Brasil. Brazilian Journal of Wood Science, v. 6, n. 1, p. 47–62, 2015.

REIS, A. R. S.; POTIGUARA, R. C. V.; REIS, P. L. Anatomia foliar de Aspidosperma Mart. & Zucc. (Apocynaceae). Enciclopédia Biosfera, v. 9, n. 17, p. 3206–3227, 2013.

RIBEIRO, I. C. et al. Secondary metabolites of Apocynaceae: pharmacological

perspectives. Frontiers in Pharmacology, v. 12, 2021.

SALES, M. L. F. Estudo fitoquímico de Aspidosperma nitidum (Benth). 95 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2019.

SANTANA, D. G. et al. Beneficial effects of the ethanol extract of Caesalpinia pyramidalis on the inflammatory response in abdominal hyperalgesia in rats with acute pancreatitis. Journal of Ethnopharmacology, v. 142, n. 2, p. 445–455, 2012.

SANTIAGO, A. S.; DA ROCHA PITA, S. S.; GUIMARÃES, E. T. Tratamento da leishmaniose, limitações da terapêutica atual e a necessidade de novas alternativas: uma revisão narrativa. Research, Society and Development, v. 10, n. 7, p. e29510716543, 2021.

SANTOS, A. C. B. et al. Levantamento etnobotânico, químico e farmacológico de espécies de Apocynaceae Juss. ocorrentes no Brasil. Revista Brasileira de Plantas Medicinais, v. 15, p. 442–458, 2013.

SANTOS, L. M. et al. Phytochemistry and bioactivity of Apocynaceae species from Brazil. Molecules, v. 28, n. 15, 2023.

SANTOS, S. P. D. dos. Alcaloides indólicos de Aspidosperma pyrifolium: estudo fitoquímico e dados espectroscópicos. Dissertação (Mestrado), Brasil, 2016.

SCARANO, F. R. et al. Plant biodiversity in the Brazilian biomes. Biodiversity and Conservation, v. 21, n. 3, p. 625–651, 2012.

SHELLARD, E. J.; HOUGHTON, P. J. Mitragyna species of Asia. XIV. The isolation of dihydrocorynantheol and corynantheidol from the leaves of Mitragyna parvifolia (Roxb.) Korth from Sri Lanka (Ceylon). Planta Medica, 1973.

SILVA, M. L.; PEREIRA, C. G.; CARVALHO, L. M. Preparation of plant material for phytochemical studies: influence of drying and grinding processes. Journal of Medicinal Plants Research, v. 14, n. 5, p. 215–223, 2020.

SILVA, R. M. et al. Taxonomic review of Brazilian Apocynaceae. Acta Botanica Brasilica, v. 37, n. 4, p. 589–602, 2023.

SOTTOMAYOR, M. et al. Peroxidases and the biosynthesis of terpenoid indole alkaloids in the medicinal plant Catharanthus roseus (L.) G. Don. Phytochemistry Reviews, v. 3, p. 159–171, 2004.

SOUZA, A. C. et al. Spatial analysis of American cutaneous leishmaniasis in the state of Amazonas. Revista de Saúde Pública, v. 58, p. 1–11, 2024.

SOUZA, C. D. et al. Chemical and pharmacological aspects of Brazilian Apocynaceae

species. Journal of Ethnopharmacology, v. 302, 2024.

STEWART, J. J. P. Application of the PM6 method to modeling proteins. Journal of Molecular Modeling, v. 15, n. 7, p. 765–805, 2009.

SUN, J.; BAKER, A.; CHEN, P. Profiling the indole alkaloids in yohimbe bark with ultra-performance liquid chromatography coupled with ion mobility quadrupole time-of-flight mass spectrometry. Rapid Communications in Mass Spectrometry, v. 25, n. 18, p. 2591–2602, 2011.

TAVARES, C. T.; SANTANA, A. L. B. D. Estudo químico da madeira de Aspidosperma pyrifolium Mart. (Pereiro). XII Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão da UFPE, Recife, Pernambuco, Brasil, 2013.

TAVARES, J. F. et al. Alkaloids and volatile constituents from the stem of Fusaea longifolia (Aubl.) Saff. (Annonaceae). Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 15, n. 2, p. 115–118, 2005.

TOMAZZONI, M. I.; NEGRELLE, R. R. B.; CENTA, M. L. Fitoterapia popular: a busca instrumental enquanto prática terapêutica. Texto Contexto Enfermagem, v. 15, n. 1, 2006.

TRINDADE, R. C. S. et al. Estudo farmacobotânico das folhas de Aspidosperma excelsum Benth. (Apocynaceae). Revista Fitos, v. 10, n. 3, p. 220–372, 2016.

VOLPEDO, G. et al. Mechanisms of immunopathogenesis in cutaneous leishmaniasis and post kala-azar dermal leishmaniasis (PKDL). Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, v. 11, 685296, 2021.

WENG, H.; CHEN, H.; WANG, M. Innovation in neglected tropical disease drug discovery and development. Infectious Diseases of Poverty, v. 7, n. 1, p. 67, 2018.

WHO. Ending the neglect to attain the Sustainable Development Goals: a road map for neglected tropical diseases 2021–2030. Geneva: WHO, 2021.

WHO. Global report on traditional and complementary medicine 2023. Geneva: World Health Organization, 2023.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Leishmaniasis: fact sheet. Geneva: WHO, 2024. Disponível em: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis . Acesso em: 11 out. 2025.

WOODSON, R. J. Studies in the Apocynaceae. VIII. An interim revision of the genus Aspidosperma Mart. & Zucc. Annals of the Missouri Botanical Garden, v. 38, p. 119–204, 1951.

ZHANG, W. W. et al. A second generation leishmanization vaccine with a markerless

attenuated Leishmania major strain using CRISPR gene editing. Nature Communications, v. 10, n. 11, 2020.

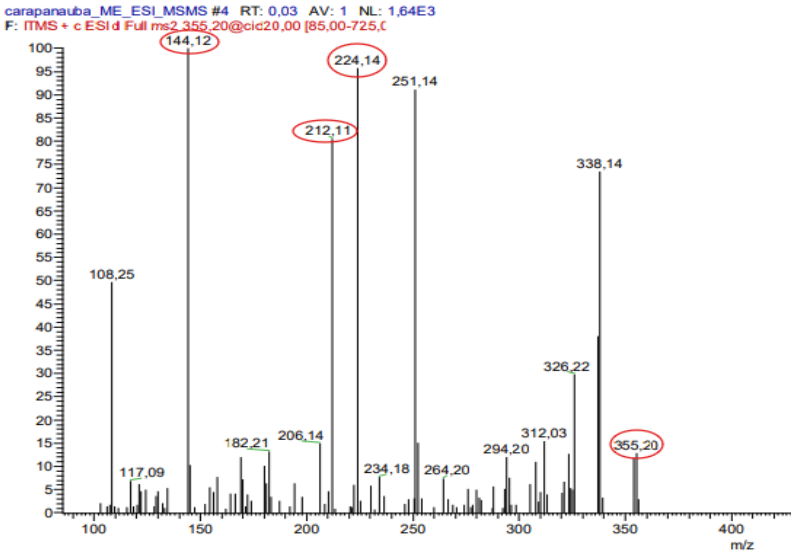
PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION – PAHO. Guideline for the Treatment of Leishmaniasis in the Americas: Second Edition. Washington, D.C.: PAHO, 2022. Disponível em: https://iris.paho.org/handle/10665.2/56120 . Acesso em: 16 out. 2025.

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION – PAHO. Cutaneous and Mucosal Leishmaniasis – Technical Report. Washington, D.C.: PAHO, 2023. Disponível em: https://www.paho.org/en/topics/leishmaniasis/cutaneous-and-mucosal-leishmaniasis . Acesso em: 16 out. 2025

APÊNDICE

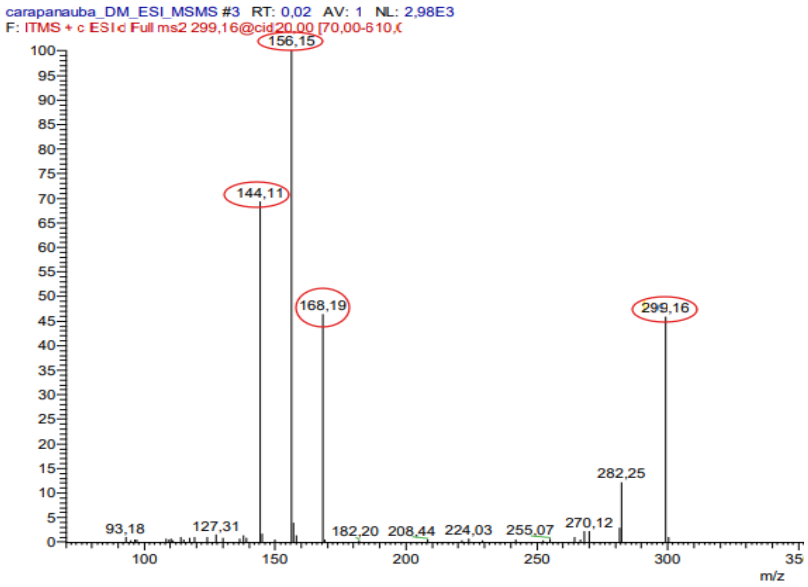
5.2.1 Substâncias encontradas no extrato Diclorometânico de *Aspidosperma excelsum* Benth

Figura 22: Espectro de massas do íon *m/z* 355 do Extrato Diclorometânico



Fonte: A autora., (2025).

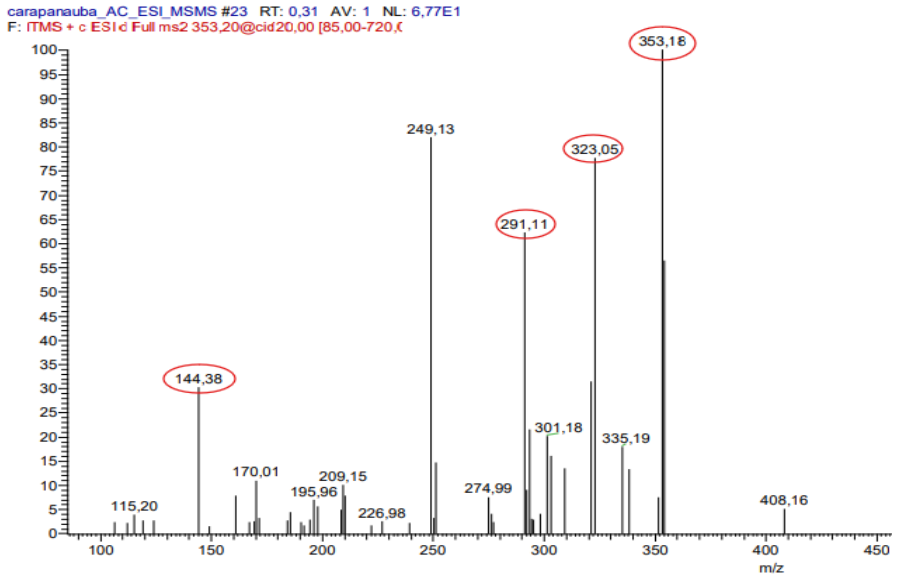
Figura 23: Espectro de massas do íon *m/z* 299 do Extrato Diclorometânico



Fonte: A autora., (2025).

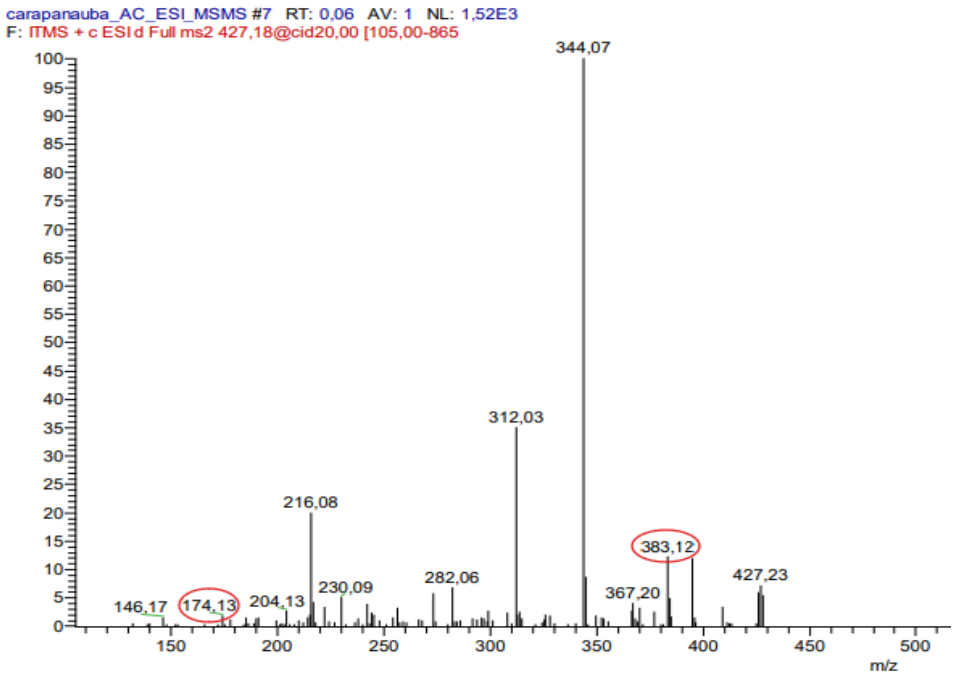
5.2.2 Substâncias encontradas no extrato Acetato de Etila de *Aspidosperma excelsum* Benth

Figura 24: Espectro de massas do íon *m/z* 353 do Extrato Acetato de Etila



Fonte: A autora., (2025).

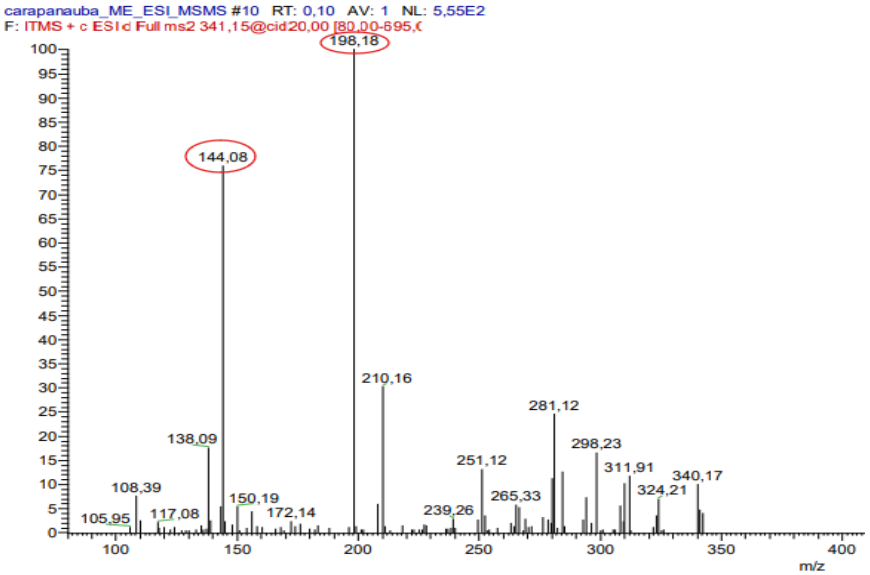
Figura 25: Espectro de massas do íon *m/z* 383 do Extrato Acetato de Etila



Fonte: A autora., (2025).

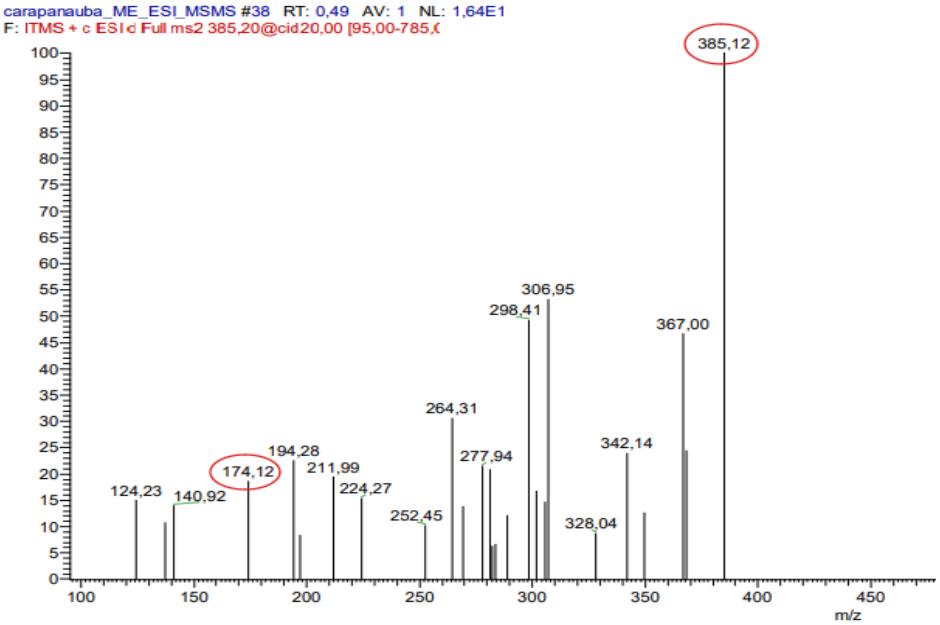
5.2.3 Substância encontrada no extrato Metanólico de *Aspidosperma excelsum* Benth

Figura 26: Espectro de massas do íon *m/z* 341 do Extrato Metanólico



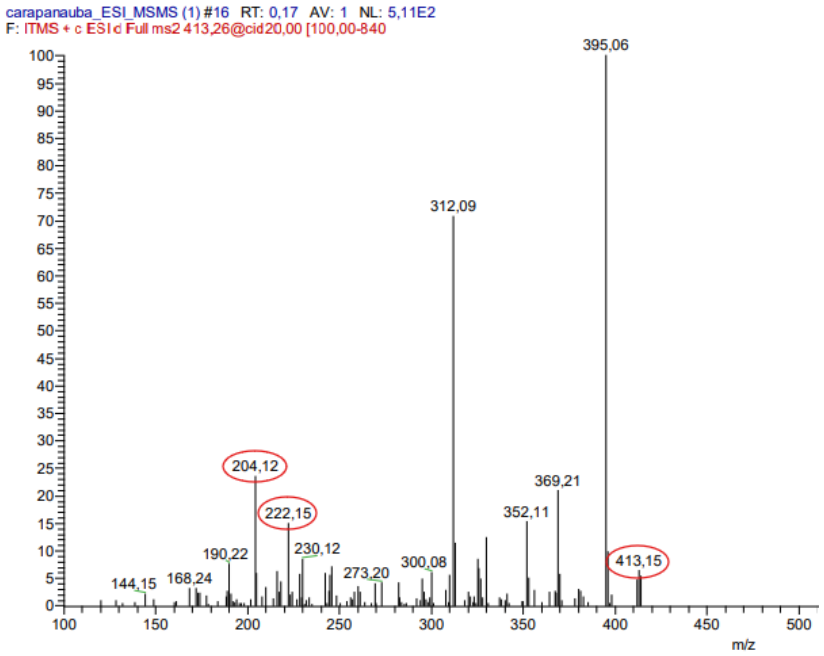
Fonte: A autora., (2025).

Figura 27. Espectro de massas do íon *m/z* 385 do Extrato Metanólico



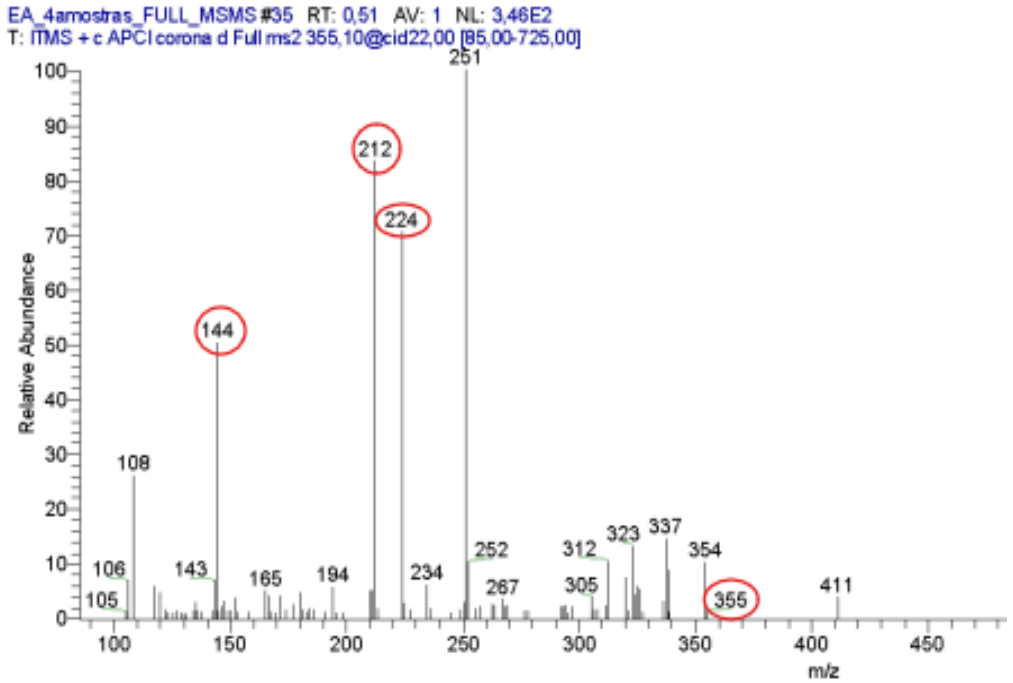
Fonte: A autora., (2025).

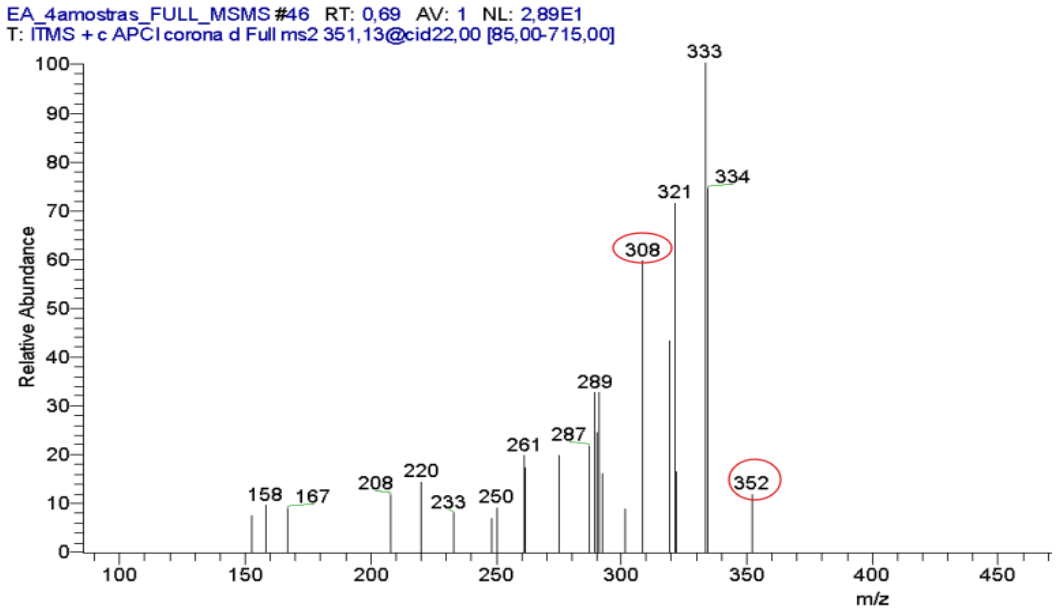
Figura 28. Espectro de massas do íon *m/z* 413 do Extrato Metanólico (Reserpilina)



5.2.4 Substâncias encontradas no extrato aquoso de *Aspidosperma excelsum* Benth

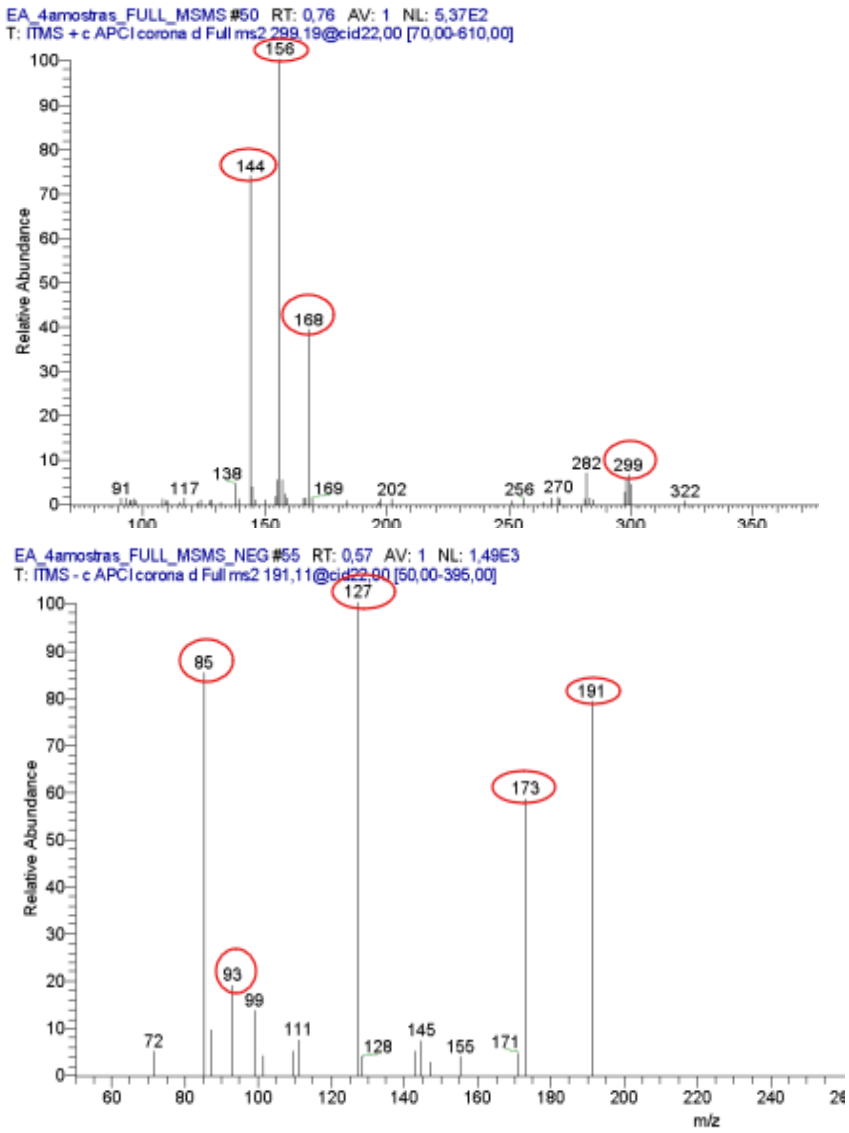
Figura 29: Espectros íon *m/z* 299 e *m/z* 191 do Extrato AEAEX





Fonte: A autora., (2025)

Figura 30: Espectros íon *m/z* 355 e *m/z* 352 do Extrato AEAEX



Fonte: A autora., (2025)