

**UNIVERSIDADE ANHANGUERA-UNIDERP**

**GIOVANA COUTINHO ZULIN NASCIMENTO**

**PERFIL TOXICOLÓGICO, HISTOLÓGICO E QUÍMICO DE PLANTAS DO  
CERRADO COM POTENCIAL FARMACOLÓGICO**

**CAMPO GRANDE – MS**

**2019**

**Giovana Coutinho Zulin Nascimento**

**Perfil toxicológico, histológico e químico de plantas do Cerrado com potencial farmacológico**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Meio Ambiente e Desenvolvimento Regional da Universidade Anhanguera-Uniderp, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Meio Ambiente e Desenvolvimento Regional.

Comitê de Orientação:

Profa. Dra. Vânia Lúcia Brandão Nunes

Profa. Dra. Rosemary Matias

Prof. Dr. Ademir Kleber Morbeck de Oliveira

**CAMPO GRANDE – MS**

**2019**

## FICHA CATALOGRÁFICA

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Anhanguera Uniderp

N195p Nascimento, Giovana Coutinho Zulin.  
Perfil toxicológico, histológico e químico de plantas do cerrado com potencial farmacológico. / Giovana Coutinho Zulin Nascimento. -- Campo Grande, 2019.  
70f. : il. color.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Anhanguera Uniderp, 2019.  
“Orientação: Profa. Dra. Vânia Lúcia Brandão Nunes e Profa. Dra. Rosemary Matias e Prof. Dr. Ademir Kleber Morbeck de Oliveira.”

1. Bioma cerrado. 2. Recursos naturais. 3. *Psycotria carthagenensis*.  
4. Colinesterases. 5. Morfologia tecidual. I. Título.

CDD 21.ed. 615.9

Elaborada por: Bibliotecária Kelly Cristina de Souza – CRB-1/2341

Dedico esse trabalho aos meus filhos

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus por nunca me deixar perder fé!

Agradeço ao meu marido Décio Azevedo aos meus familiares, que tanto me ajudaram nos momentos difíceis e incentivaram a não desistir deste sonho.

Agradeço aos meus orientadores professores; Dra. Rosemary Matias e Ademir Kleber Morbeck de Oliveira pela orientação, ensinamentos, apoio e dedicação, que nestes dois anos, abriu as portas da ciência e contribuiu pela minha formação acadêmica. Contribuindo firmemente no meu caminho pela ciência.

Em especial a orientadora professora Dra. Vania Lúcia Brandão Nunes pelo apoio, disponibilidade para condução do processo de conclusão final de Mestrado.

Aos meus companheiros de laboratório, pelo companheirismo e amizade, durante nossa rotina de trabalho. A Karen Silva dos Santos pela amizade e Raquel Costa de Oliveira pela dedicação e cuidado. Pelos momentos de alegria compartilhado no laboratório de Pesquisa em Plantas Mediciniais. Ao amigo Pina pelas valiosas contribuições.

A todos os meus professores que compartilharam seus conhecimentos e contribuíram pela minha formação. Em especial a professora Dra. Doroty Mesquita Dourado pela amizade e modo acolhedor ao me receber no laboratório de Toxinologia em Plantas Mediciniais.

A professora Dra. Carla Leticia Gediel pelo apoio, amizade e companheirismo.

A professora Dra. Vania Olivon, pelo auxílio nas interpretações das análises bioquímicas realizadas.

Ao professor Dr. Gilberto G. Facco pelo apoio nas interpretações das análises histológicas.

À CAPES pela bolsa de estudo.

À instituição (Universidade Anhanguera-Uniderp), Campo Grande, MS. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 e, da Universidade Anhanguera-Uniderp, através do pagamento de bolsa de estudo.

## **BIOGRAFIA DO DISCENTE**

Giovana Coutinho Zulin Nascimento, nascida na cidade de Presidente Prudente, Estado de São Paulo, em 19 de dezembro de 1973.

Em 1998 ingressou na Universidade Para o Desenvolvimento Regional da Região do Pantanal – UNIDERP, onde graduou-se no curso de Farmácia em dezembro de 2002.

Em 2005 concluiu na Universidade Mauricio de Nassau a especialização em Docência do Ensino Superior.

Em 2006 recebeu Título em Manipulação Alopática pela ANFARMAG – Associação Nacional dos Farmacêuticos Magistrais.

Em 2011 concluiu a Especialização em Acupuntura pela ABA – Associação Brasileira de Acupuntura.

Em 2015 ingressou na especialização em Biomedicina Estética pela Faculdade AVM.

Em 15 de Março de 2017, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Meio Ambiente e Desenvolvimento Regional, nível de Mestrado, na área de conhecimento em Biodiversidade e Desenvolvimento Sustentável do Pantanal e do Cerrado pela Universidade Anhanguera–Uniderp, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, concluindo-o em fevereiro de 2019.

## SUMÁRIO

1. Resumo Geral .....	08
2. General Summary .....	10
3. Introdução Geral .....	11
4. Revisão de Literatura .....	14
4.1. <i>Psychotria carthagenensis</i> : características botânica, farmacológicas e químicas .....	15
4.2. Breve revisão do Gênero <i>Psychotria</i> .....	17
4.3. Doenças Neurodegenerativas .....	20
4.3.1. Mal de Alzheimer .....	20
4.3.2. Doença de Parkinson (DP) .....	21
5. Referências Bibliográficas .....	23
6. Artigos .....	36
Artigo I. Toxicidade e efeito inibitório da Acetilcolinesterase de <i>Psychotria carthagenensis</i> Jacq, Campo Grande, MS, Brasil .....	36
Resumo .....	36
Abstract .....	37
Introdução .....	37
Material e Métodos .....	39
Resultados e Discussão .....	45
Conclusões .....	57
Referências Bibliográficas .....	58
6. Considerações Finais .....	70

## 1. Resumo Geral

A busca por novos agentes terapêuticos tem levado a comunidade científica no Brasil a investigar plantas já utilizadas na medicina popular, como *Psychotria carthagenensis* Jaq., empregada como alucinógena por comunidades místicas do Cerrado brasileiro. Validar seu potencial terapêutico e contribuir com informações que possam ser utilizadas nas Práticas Integrativas e Complementares no Sistema Único de Saúde contempla a linha de pesquisa Sociedade, Ambiente e Desenvolvimento Regional Sustentável. Nesse sentido, objetivou-se avaliar os efeitos do extrato das folhas frescas e secas de *Psychotria carthagenensis* na espécie *Rattus norvegicus*, as alterações bioquímicas decorrentes do ensaio com as doses de  $200 \mu\text{g kg}^{-1}$  de peso de animal, as alterações morfológicas do fígado e rins assim como a expressão da enzima acetilcolinesterase (AChE) e relacionando com seus constituintes químicos. A planta foi coletada na Reserva Biológica da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, Mato Grosso do Sul. Após secagem, o material foi triturado e o extrato submetido à análise química. Os ensaios biológicos foram realizados após aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal e seguiram as normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal. Nos ensaios pré-clínicos, os animais foram divididos em 4 grupos: planta fresca, planta seca, controle negativo (água) e controle positivo (clonazepam=  $0,5 \text{ mg kg}^{-1}$  de peso do animal). Os animais foram pesados inicialmente, foi realizado controle do consumo de água e após o tratamento, por 15 dias, via gavagem ( $1 \text{ mL}^{-1}$ ) com infusão de planta teste ( $200 \mu\text{g kg}^{-1}$  de peso do animal), o sangue foi coletado para análise de aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), dosagem de acetilcolina, ureia, creatinina e ácido úrico. Na eutanásia coletou-se o fígado e os rins coletados para procedimentos padrões para análise histológica. Os extratos da planta apresentaram testes positivos para taninos, flavonóides, alcaloides, açúcares redutores, triterpenos, com destaque aos compostos fenólicos, antraquinonas e esteroides. A dosagem de ALT e AST, mostrou uma tendência no aumento de produção das enzimas hepáticas, porém, não foram estatisticamente significativos. A análise histológica dos rins e fígado dos animais não evidenciaram alterações morfológicas. Entretanto, as infusões de folhas secas



de *P. carthagenensis* inibiram os níveis da AChE, o que demonstra um potencial farmacológico.

**Palavras-chave:** Recursos naturais; Bioma Cerrado; *Psycotria carthagenensis*; “Ayahuasca”; Bebida alucinógena; Morfologia tecidual.

## 2. General Summary

**Toxicological and chemical profile of Cerrado plants with pharmacological potential: toxicity, mutagenicity and histology.** The search for new therapeutic agents has led to a scientific community in Brazil, the research is already used in folk medicine, such as *Psychotria carthagenensis* Jaq., also used as hallucinogenic by mystical communities of the Brazilian Cerrado. Valves of its therapeutic potential and use with information that can be used in the Integrated and Complementary Practices in the Unified Health System include the research line Society, Environment and Sustainable Regional Development. The objective is extra risk and biological seeds of *Psychotria carthagenensis* ratiopharm and ratiopharm in the *Rattus novergicus*, the biochemical changes; kidneys as well as the expression of the enzyme AChE, relating to its chemical constituents. The plant was collected in the Biological Reserve of the Federal University of Mato Grosso do Sul, Campo Grande, Mato Grosso do Sul. After drying, the material was crushed and the extract submitted to chemical analysis. The biological tests were carried out after the approval of the Committee of Ethics in Animal Experimentation and after the norms of the Brazilian College of Animal Experimentation. In the pre-clinical trials with *R. Novergicus*, the animals were divided into 4 groups: fresh plant, dry plant, negative control (water) and positive control (clonazepam = 0.5 mg kg<sup>-1</sup> animal weight). Blood samples were collected for analysis of aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), acetylcholine, and aminotransferase (ALT), respectively. After 15 days of gavage (1 mL) with test plant weight (200 µg kg<sup>-1</sup> body weight) urea, creatinine and uric acid. The animals were then euthanized, their livers and kidneys had and submitted to standard procedures for histological analysis. A production of positive acids, flavonoids, alkaloids, reducing sugars, triterpenes, compounds to the fossil, anthraquinones and steroids. Through the dosage of ALT and AST, there was a trend in increased production of liver enzymes; but were not statistically significant. The history of the kidney and liver of the animals exposed in extract did not evidence pathological changes. However, as dry leaf infusions are AChE levels, which demonstrates pharmacological potential.

**Keywords:** Natural Resources; Cerrado Biome; *Psychotria carthagenensis*; “Ayahuasca”; Hallucinogenic Drink; Morfology Biology.

### 3. Introdução Geral

No Brasil, existem várias espécies botânicas com uma diversidade de princípios ativos de eficácia terapêutica. Em 2006, o Ministério da Saúde publicou a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no Sistema Único de Saúde (SUS). Este tem por finalidade ampliar as opções terapêuticas oferecidas aos usuários do SUS, com garantia de acesso a plantas medicinais, fitoterápicos e outros serviços relacionados, com segurança, eficácia e qualidade (BRASIL, 2006).

Com isto, os produtos de origem vegetal têm demonstrado enorme potencial como fontes de compostos bioativos, como por exemplo, algumas espécies citadas na Portaria GM/MS Nº 971 de 03 de maio de 2006, anexo I. Entre estas existem as que possuem comprovada atividade: adstringente, analgésica, antialérgica, antiasmática, antiemética, anti-inflamatória, antinociceptiva, antiespasmódica, antigripais, antibacteriana, antiulcerosa, antidiarreica não infecciosa, antisséptica, antitussígena, antiparasitária, broncodilatadora, calmante, colagoga, cicatrizante, diuréticas, descongestionante, estimulante, expectorante, hipotensora, laxativa suave, redutora do colesterol e, vasoprotetora (BRASIL, 2010).

Contudo, o uso de qualquer produto natural pela medicina popular ou sob orientação do SUS, merece atenção, pois a toxicidade de medicamentos preparados a partir de plantas e derivados, podem trazer sérios prejuízos à saúde. Logo, qualquer material botânico usado *in natura* ou derivados que venha a desencadear reações adversas por vários aspectos, como a diversidade e concentrações de seus constituintes, a interações destes constituintes com outros medicamentos ou alimentos e também relacionados com as características do paciente, tais como idade, sexo e condições fisiológicas, que devem ser investigados (BADKE *et al.*, 2012).

Assim, no Brasil, existem várias plantas de uso popular com princípios ativos de eficácia terapêutica. Porém, se faz necessário conhecer os efeitos tóxicos destas plantas e relacionar com seus constituintes químicos. Dentre as espécies de uso popular no Estado de Mato Grosso do Sul está *Psychotria carthagenensis* Jacq. (Rubiaceae), que possui, por exemplo, ação antiepilética, anti-inflamatória, antitumoral e anticancerígena, cujos efeitos foram relacionados com ácido ursólico, um triterpeno tetracíclico. É muito popular na região do

Pantanal (CARDOSO *et al.*, 2000; CRISPIM *et al.*, 2002; KOCH *et al.*, 2010) e Cerrado brasileiro, onde é conhecida popularmente como sanhaçaiba ou erva-de-galha. É descrita como uma planta invasora, comum em épocas de secas (CONSOLARO, 2008). Além disso, é usada como alucinógena, não apenas no Brasil, mas em outros países da América do Sul, em cultos e rituais religiosos (MCKENNA *et al.*, 1984).

Por outro lado, os ensaios pré-clínicos apontam para a toxicidade da planta em diferentes concentrações (ELISABETSKY, 1995; BARCELLOS, 2014; BERGAMIN, 2016). Os efeitos alucinógenos foram relacionados aos alcaloides, isolados também de outras espécies de *Psychotria* (BERGER *et al.*, 2015), como a *Psychotria viridis*, que em algumas regiões brasileiras suas folhas *in natura* ou secas utilizadas na preparação da bebida alucinógena *ayahuasca*. Na ausência desta espécie, os usuários utilizam *P. carthagenensis* (LEAL e ELISABETSKY, 1996).

No Brasil, o uso da bebida *ayahuasca* e as pesquisas que tem por objetivo validar o uso terapêutico da espécie *P. viridia* foi oficialmente reconhecido e protegido por lei em 2004 (BRASIL, 2004). A oficialização foi necessária, pois várias seitas religiosas, dentre elas o Santo Daime, Santa Maria, União do Vegetal e Barquinha surgiram no país, misturando elementos do cristianismo e de religiões africanas ou indígenas e usam a bebida como método para a elevação espiritual (FRESCKA *et al.*, 2016).

O potencial terapêutico da *ayahuasca* foi evidenciado para o tratamento de distúrbios como a depressão (ANDERSON, 2012), ansiedade (SARRIS *et al.*, 2013) e distúrbios neurodegenerativos (PASSOS *et al.*, 2013ab; KLEIN-JUNIOR *et al.*, 2016). Estes efeitos foram relacionados com os alcaloides e sugerem que este grupo de metabólitos estão envolvidos na neurotransmissão serotoninérgica.

Estas informações sugerem que as plantas deste gênero *Psychotria* possam atuar como neurotransmissores e conseqüentemente, inibir a enzima acetilcolinesterase (AChE), o que pode favorecer no tratamento de doenças neurodegenerativas, como por exemplo, Alzheimer (PASSOS *et al.*, 2013ab).

Embora *P. carthagenensis* possa ter efeitos tóxicos, por tratar-se de uma planta de uso na medicina popular no Pantanal e Cerrado, é necessário investigar uma dose que possibilite a inibição da AChE, sem efeitos em órgão

vitais, como fígado e rins. Portanto, a realização dos testes toxicológicos básicos, seguindo as exigências da legislação brasileira, são necessários para que a espécie tenha aplicabilidade farmacológica e em formulações fitoterápicas (BRASIL, 2004).

Diante disto, objetivou-se avaliar os efeitos do extrato das folhas frescas e seca de *Psychotria carthagenensis* Jacq. na espécie *Rattus norvegicus*, suas alterações bioquímicas decorrentes do ensaio com as doses de 200 µg kg<sup>-1</sup> de peso de animal, as alterações morfológicas do fígado e rins assim como e a expressão da enzima AChE, correlacionando com os constituintes químicos da planta.

Como objetivo específico, (1) determinar os constituintes químicos da planta, (2) avaliar a hepatotoxicidade e nefrotoxicidade em ratos *Wistar*, (3) realizar análises bioquímicas do sangue periférico de ratos *Wistar* e, (4) avaliar *in vitro* a atividade inibitória da AChE.

#### 4. Revisão de Literatura

O Pantanal e Cerrado tem recebido as atenções de estudiosos das diversas áreas de conhecimento, preocupados com o acelerado processo de perturbação que afeta diretamente as espécies utilizadas na medicina tradicional mato-grossense e sul-matogrossense (KLINK e MOREIRA, 2002; HENRIQUES, 2003; KLINK e MACHADO, 2005; AGRA *et al.*, 2007). As ações antrópicas levam há uma necessidade urgente de se conhecer os usos de plantas nativas como remédios, incentivando a conservação e verificação científica de plantas medicinais raras e menos conhecidas (MARONI *et al.*, 2006; AGRA *et al.*, 2007).

Dentre estas plantas se destaca o gênero *Psychotria*, Rubiaceae, com cerca de 2000 espécies de arbustos e subarbustos. São encontrados em margens de rios, em regiões tropicais do mundo todo, apresentando taxonomia complexa (PIRES *et al.*, 2010). No Brasil, a espécie mais comum é *Psychotria carthagenensis*, catalogada por Guarim Neto (1984,1987), que cita a mesma por seu uso medicinal pelo homem pantaneiro.

No Brasil, o gênero *Psychotria* é conhecido pelo nome vulgar “Sayaçaiba” ou “Sanhaçaiba”, “fruta-de-sanhaço” (porque os frutos lembram frutos do sanhaço, cagezinho-de-cacho, erva-de-passarinho, jaruvarana ou cafeeiro-do-Mato). É conhecida também como mata-ratos devido sua toxicidade (NEPOKROEFF *et al.*, 1999; COELHO *et al.*, 2006; SILVA, *et al.*, 2015). A toxicidade das espécies de *Psychotria* está associada a classe de metabólitos secundários, em geral as saponinas e aos alcaloides (TOKARNIA *et al.*, 2000).

Estudos fitoquímicos de diferentes espécies do gênero reportam que os alcaloides são características de certos subgêneros, tais como os alcaloides poli-indólicos, isolados de espécies do subgênero *Psychotria* (pantropical) e os alcaloides indol-monoterpênicos (MIAS), isolados do subgênero *Heteropsychotria* (neotropical). É comum a presença de alcaloides bioativos, sobretudo os alcaloides monoterpênicos indólicos. Investigações biológicas e farmacológicas com foco nos MIAS de *Psychotrias* mostraram um número significativo de atividades, em especial relacionada ao sistema nervoso central (QUEIROZ, 2017).

A presença da classe de alcaloides em diferentes espécies de *Psychotria* gera controvérsias sobre a sua posição taxonômica, pois os subgêneros *Psychotria* e *Heteropsychotria* apresentam distinções quanto ao tipo de

alcaloides presente em sua constituição, sendo que um produz alcaloides poliméricos e o outro, alcaloides indólicos monoterpenos.

#### **4.1. *Psychotria carthagenensis* (Rubiaceae): características botânicas, biológicas, farmacológicas e químicas**

A espécie é conhecida pelos nomes populares carne-de-vaca, cafeeiro-do-mato e maria-mole (FARIAS, 2006). Pode ser identificada pela presença de estipulas apicais lanceoladas e alguns trabalhos populacionais tem apresentado variações distílica com perdas parciais ou totais dos padrões de distília (CONSOLARO, 2008; VITARELLI e SANTOS, 2009), dois morfos florais equilibrados de 1:1 e monomorfismo longistilo, no qual é retratado as espécies da *P. carthagenensis* e *P. mapourioides*. A variação de distília parece estar relacionado com as taxas e populações devido as forças de integridade do supergene e aos fatores ambientais no qual estão submetidos (LI e JHONSON 2001; COELHO e BARBOSA, 2003)

*P. carthagenensis* (Figura 1A) assemelha-se com *P. mapourioides* (Figura 1B) pelo tipo de inflorescência em panículas terminais e pela corola branca, diferenciando-se pelo comprimento do pedúnculo da inflorescência e pela forma do limbo, sendo 3,5-6 cm, com limbo obovado em *P. carthagenensis* e 2,8-13 cm, com limbo largamente lanceolado em *P. mapourioides* (TAYLOR *et al.*, 2004).

Além da complexidade dentro do próprio gênero, relacionada a diferença do tamanho do pecíolo, *Psychotria* tem sido estreitamente relacionada a outros gêneros como *Palicourea* e *Cephaelis* (TAYLOR, 1996) e *Calycodendron* e *Calycosia* (LIBOT *et al.*, 1987). No entanto, devido ao grande número de espécies e à falta de caracteres morfológicos para estabelecer claras delimitações, não há uma classificação precisa desse gênero, considerado taxonomicamente complexo (TAYLOR, 1996; NEPOKROEFF *et al.*, 1999).

Apesar de sua complexidade taxonômica, muitas dessas plantas apresentam potencial econômico e interações ecológicas (GUARIM NETO, 1991). O interesse etnobotânico do gênero está no conteúdo de *N,N*-dimethyltriptamina (NEWMAN, 2016), encontrado no chá alucinógeno “Santo D`Aime”, o qual contém o extrato de *P. carthagenensis* (RIVER e LINDGREN,

1972). Já foi constatado também a atividade antioxidante, anticolinesterásica e antibacteriana para actinobactéria *Streptomyces* (LIMA, 2011).

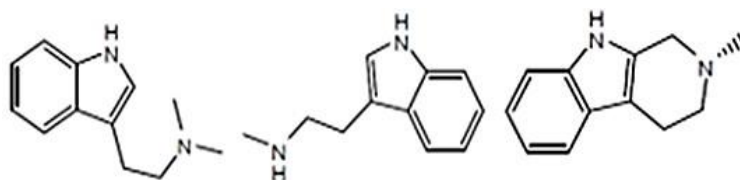


**Figura 1.** Folhas e frutos de *Psychotria carthagenensis* Jacq. (A) e *Psychotria mapourioides* DC. (B).

Nas Américas, *P. carthagenensis* apresenta a distribuição desde a Costa Rica até a Argentina; no Brasil, do Pará ao Rio Grande do Sul (VITARELLI e SANTOS, 2009).

Fonseca *et al.* (2017) avaliaram a regeneração natural da mata ciliar em área de restauração ecológica em Cachoeirinha, Rio Grande do Sul e *P. carthagenensis* foi classificada como uma das espécies consideradas de referência e riqueza para área de restauração com plantio.

De acordo com relatos de River e Lindigren (1972), o extrato das folhas de *P. carthagenensis* (Figura 2) revelaram quantidades substanciais do alcaloide *N,N*-Dimetiltriptamina (DMT), traços de *N*-Monomtilriptamina e 2-metil-1,2,3,4-tetrahidro- $\beta$ -carbolina (Figura 2), justificando sua ação.



**Figura 2.** Alcaloides *N,N*-Dimetiltriptamina (DMT), traços de *N*-onomethyltriptamina e 2-metil-1,2,3,4-tetrahidro- $\beta$ -carbolina.



A ação da DMT no SNC ocorre devido a sua semelhança estrutural com o neurotransmissor serotonina, interagindo de forma agonista com os receptores 5-HT<sub>2</sub> do cérebro (GIL *et al.*, 2014). No entanto, a ação da DMT depende da inibição da monoamina oxidase (MAO), enzima que degrada o alcaloide DMT no fígado e intestino (PIRES *et al.*, 2010).

Em relação a *P. carthagenensis*, existe uma grande variação nas suas características químicas. Isto ocorre devido sua grande distribuição territorial no Brasil. Desta maneira, a espécie possui grupos químicos distintos, dependendo da região onde foi coletada. Em amostras coletadas no Estado do Rio Grande do Sul, foram encontrados alcaloides para as espécies *P. carthagenensis*, *P. brachyceras*, *P. leiocarpa*, *P. myriantha*, *P. suterella* e *P. brachypoda*. Porém em outro estudo espécies de *Psychotria* obtidas da região de Porto Alegre – RS, foram detectados como constituintes majoritários os triterpenos (LOPES *et al.*, 2004).

Lima (2011) observou que a atividade inibidora da enzima acetilcolinesterase é maior do que a atividade antioxidante em extratos das folhas e caules da *P. carthagenensis*.

Monks *et al.* (2002), realizaram screening antitumoral e cita para a *P. carthagenensis*, coletada da região de Porto Alegre, como promissora. Formagio *et al.* (2014) avaliaram a atividade antioxidante das folhas de *P. carthagenensis*, e relacionaram com a presença de compostos fenólicos, flavonoides, taninos condensados e flavonol detectados no extrato.

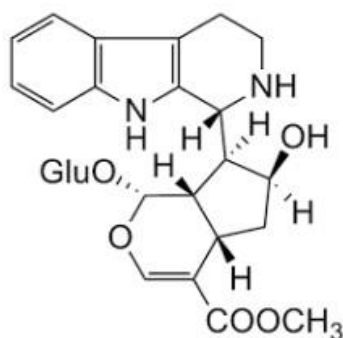
Lima (2011), coletou amostras de folhas de *P. carthagenensis* na EMBRAPA Gado de corte de Campo Grande (MS), em 2008, com a análise química indicando a presença de terpenóides, metil éster saturado, alcanos, etil éster insaturado e ácido carboxílico insaturado.

#### **4.2. Breve Revisão do Gênero *Psychotria***

As investigações biológicas e farmacológicas do gênero *Psychotria* demonstraram um número significativo de atividades, como antioxidantes (FORMAGIO *et al.*, 2014), antibacterianos (MORAES *et al.*, 2011), antiparasitários (KATO *et al.*, 2012), antitumoral (GERLACH *et al.*, 2010ab), anti-inflamatório (INIYAVAN *et al.*, 2012), ansiolítico e antidepressivo (FARIAS *et al.*, 2012) e atividades antiepilépticas (AWAD *et al.*, 2009).

Segundo, Taylor *et al.* (2007) e Taylor (2012), espécies de *Psychotria*, são utilizadas tradicionalmente por nativos para dores de ouvido e abdominais, sendo as flores usadas para problemas auriculares, os frutos e raízes com efeito colagogo (ELISABETSKY e CASTILHOS, 1990). Extratos dessas espécies de *Psychotria* apresentam princípios ativos como a Hodkinsina e a Quimonantina que mostram a ação analgésica com mecanismo de ação opióide e antagonismo de receptores glutamatérgicos, semelhantes ao da morfina (AMADOR *et al.*, 2000; VEROTTA *et al.*, 2002; KODANKO *et al.*, 2007). Outro princípio ativo encontrado, a psicotridina também apresentou atividade analgésica dose-dependente, porém com um mecanismo de ação possivelmente não opióide (AMADOR *et al.*, 2001). Apesar de apresentar grande atividade analgésica, ela possui compostos que apresentam toxicidade principalmente aos bovinos, demonstrando ação abortiva em vacas (MOURA e MARUO, 2014).

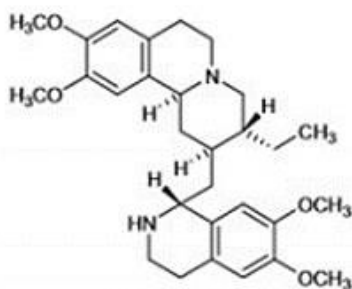
Both (2001) evidenciou que a psicolatina (Figura 3), um alcaloide biologicamente ativo com atividade analgésica moderada, e que possivelmente essa ação é devida a dois mecanismos de ação que envolvem a ativação dos receptores opióide e antagonismo dos receptores glutamatérgicos *N*-metil-*D*-aspartato (NMDA).



**Figura 3.** Fórmula estrutural da psicolatina (C<sub>27</sub>H<sub>32</sub>N<sub>2</sub>O<sub>9</sub>), alcaloide indólico.

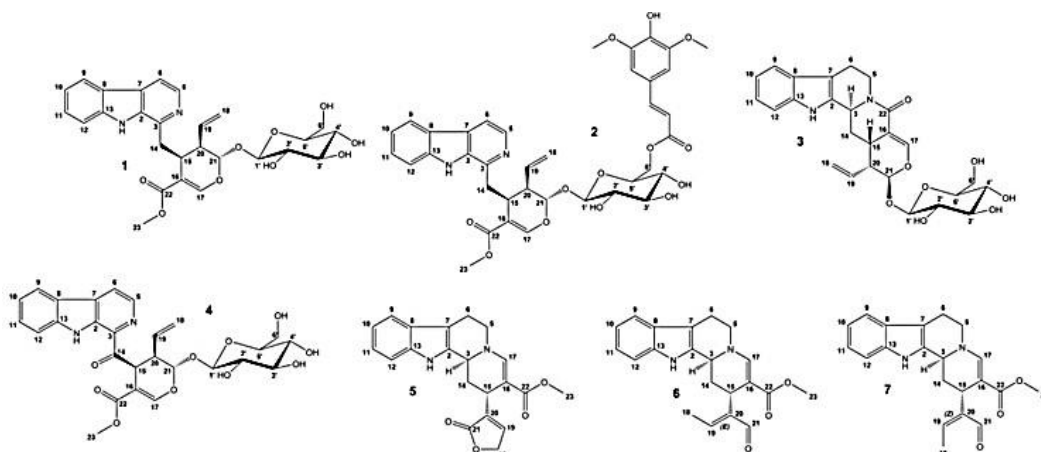
Dentre suas ações farmacológicas, destaca-se sua ação emética e amebicida, sendo esta última, por exercer uma ação tóxica direta sobre a *Entamoeba histolytica* (BRUNETON, 1995).

Nas raízes, o componente bioativo encontrado em maior proporção na planta foi o alcaloide emetina (Figura 4), responsável pelo tratamento de disenteria amebiana (AKINBOYE e BAKARE, 2011).



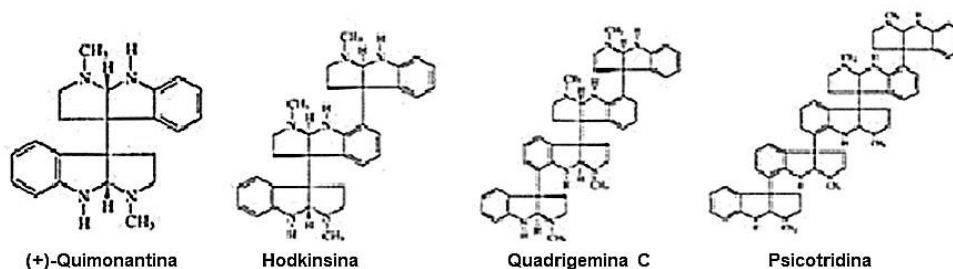
**Figura 4.** Fórmula estrutural da emetina.

Estudos químicos sobre espécies de *Psychotria* relataram a presença de alcaloides indólicos de monoterpénolalósido: **(1)** (*E*)-*O*-(6'-)-cinamoil-4"-hidroxi-3", **(2)** 5"-dimetoxilalosalida, **(3)** strictosamide, **(4)** pauridianthoside, **(5)** vallesiachotamine lactona, **(6)** *E*-valvicachotamina e **(7)** *Z*-valaliachotamine 7 (Figura 4) (PAUL *et al.*, 2003; FARIA *et al.*, 2009; PASSOS *et al.*, 2013ab; BERGER *et al.*, 2015;).



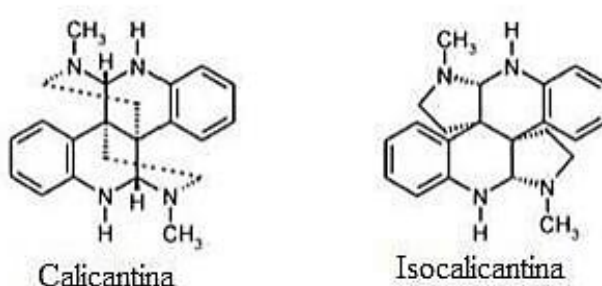
**Figura 5.** Alcaloides monoterpénos indólicos (estruturas de 1-7) identificados da fração alcalóidica de *Psychotria* spp.

Os alcaloides pirrolidinoindolínicos (Figura 6 e 7) são considerados a principal classe de metabólitos encontrados em espécies do gênero *Psychotria*, porém apresentaram também os alcaloides quinolínicos (ELISABETSKY *et al.*, 1995; VEROTTA *et al.*, 1998).



**Figura 6.** Alcaloides pirrolidinoindolínicos isolados de *Psychotria* spp.

Na região amazônica, foram isolados os alcaloides emetina, cefalina e psicotrina, encontrados principalmente nas raízes de *Psychotria*; porém a interação bioquímica específica através da qual a droga produz um efeito farmacológico, com os seus metabólitos ainda são desconhecidos (ASSIS e GIULIETTI, 1999; LAMEIRA, 2002).



**Figura 7.** Alcaloides quinolínicos isolados de *Psychotria* spp

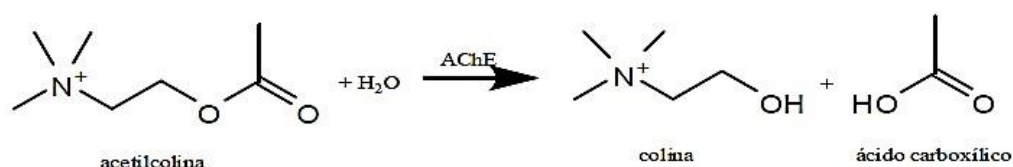
### 4.3. Doenças Neurodegenerativa

#### 4.3.1. Mal de Alzheimer (MA)

É uma doença neurodegenerativa progressiva a fatal do sistema nervoso central, que atinge primeiramente a memória, posteriormente provoca disfunções intelectuais e motoras acentuadas, levando ao óbito (PEREIRA, 2011). É considerada a quarta maior causa de morte em pessoas acima de 65 anos. O número de diagnósticos tem crescido juntamente com o aumento da expectativa de vida da população, aliado a drástica redução das taxas de natalidade, que transformam o MA num grave problema de saúde pública, um dos maiores do século (TOUCHON *et al.*, 2002; CASTRO-CALDAS e MENDONÇA, 2005; PEREIRA, 2011)

Embora a etiologia não seja clara, a causa do desenvolvimento do MA está associada a deficiência na transmissão colinérgica, uma vez que a atividade colinérgica no SNC se encontra reduzida em portadores do MA ((BARBOSA, 2006; FINNIE, 2015). A acetilcolina está envolvida na transferência de sinais nas sinapses (INGKANINAN *et al.*, 2003).

O MA é sintomático e progressivo e leva a atrofia cerebral. Uma das abordagens consiste no tratamento colinérgico da doença, restaurando a função colinérgica, o método que demonstrou maior eficácia clínica foi o uso de inibidores diretos da enzima acetilcolinesterase (AChE), responsável pela desativação do neurotransmissor acetilcolina por hidrólise, produzindo colina e acetato (Figura 8).



**Figura 8.** Reação de catalise da acetilcolina.

Alguns compostos têm sido utilizados como inibidores da AChE, mas devido aos efeitos colaterais e elevados custos econômicos que não se limitam ao preço do medicamento, mas a consulta médica, a incapacidade de se cuidar, aos meios de diagnósticos, ao internamento, a fisioterapia, ao trabalho dos cuidadores, a perda da produtividade do doente o cuidador, e a perda da saúde (PEREIRA, 2011). Assim sendo, ainda há grande interesse em encontrar melhores inibidores para esta enzima, isto pode ser feito através de bioensaios com a enzima AChE utilizando as metodologias de *Ellmann e Marston*, além do teste falso positivo. Por estas características, os extratos naturais são uma fonte promissora de inibidores da AChE (TREVISAN *et al.*, 2003; BARBOSA, 2006).

#### **4.3.2. Doença de Parkinson (DP)**

É uma doença neurodegenerativa com maior índice entre os indivíduos da terceira idade, que provoca tremor, rigidez, bradicinesia e instabilidade postural. Não existe etiologia que defina a ocorrência da degeneração, os fatores

são genéticos e ambientais, que podem ser causados por exposição a substâncias tóxicas (FERRAZ e BORGES, 2012). No entanto, está relacionada com a lesão degenerativa dos neurónios dopaminérgicos havendo uma diminuição na produção da dopamina na substância nigra que é liberada para o corpo estriado, sendo essa substância responsável pelo controle dos movimentos do homem (BARRETO *et al.*, 2018). Dentre os sintomas não motores, estão os cognitivos, que podem evoluir de forma diferente e progressiva (KUDLICKA *et al.*, 2011).

Com a diminuição dos níveis de dopamina, acaba por ocorrer um desequilíbrio entre a dopamina e a acetilcolina, também presente no corpo estriado. Desta maneira ocorrem os característicos sintomas motores da DP (GONÇALVES, 2013).

O Parkinsonismo está relacionado com a desativação dos catecóis, processo este dependente da metilação que ocorre através da enzima conhecida como catecol-O-metiltransferase (COMT), (BONIFÁCIO *et al.*, 2003).

A função primária da COMT é desativar catecóis biologicamente ativos como os neurotransmissores catecolamínicos (dopamina e epinefrina), levodopa (L-DOPA), carbidopa e flavonóides (CHEN *et al.*, 2005; BONIFACIO *et al.*, 2007;). Nas terapias atuais para a doença de Parkinson, a COMT seletiva inibidores, principalmente compostos sintéticos de nitrocatecol (entacapone e tolcapone), utilizados em combinação com L-DOPA e dopa descarboxilase inibidores, embora existam vários efeitos adversos efeitos colaterais dessas drogas (CHEN *et al.*, 2005; BONIFÁCIO *et al.*, 2007), os pesquisadores se concentraram sobre a potência dos produtos naturais com capacidade de inibir COMT. Entre várias fontes naturais, as catequinas das folhas de *Psychotrias* presentes no chá têm sido investigadas por vários grupos de pesquisa (MANDEL *et al.*, 2004; CHEN *et al.*, 2005; KADOWAKI, *et al.*, 2005).

## 5. Referências Bibliográficas

AGRA, M. F.; FREITAS, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 17, n. 1, p. 114-140, 2007.

AKINBOYE, E. S.; BAKARE O. Biological Activities of Emetine. **The Open Natural Products Journal**, Sharjah, v. 4, [s. n.], p. 8-15, 2011.

AMADOR, T. A.; VEROTTA, L.; NUNES, D. S.; ELISABETSKY, E. Antinociceptive profile of Hodgkinsine. **Planta Medica**, Stuttgart, v. 66, n. 8, p. 770-772, 2000.

AMADOR T. A.; VEROTTA, L.; NUNES, D. S.; ELISABETSKY, E. Involvement of NMDA receptors in the analgesic properties of psychotridine. **Phytomedicine: international journal of Phytotherapy and Phytopharmacology**, Stuttgart, v. 8, n. 3, p. 202-206, 2001.

ANDERSON, B. T. Ayahuasca as antidepressant? Psychedelics and styles of reasoning in psychiatry. **Anthropology of Consciousness**, Airlington, v. 23, n. 1, p. 44-59, 2012.

ASSIS, M. C.; GIULIETTI, A. M. Diferenciação morfológica e anatômica em populações de "ipecacuanha" *Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes (Rubiaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 22, n. 2, p. 205-216, 1999.

AWAD, R.; AHMED, F.; BOURBONNAIS-SPEAR, N.; MULLALLY, M.; TA, C. A.; TANG, A.; MERALI, Z.; MAQUIN, P.; CAAL, F.; CAL, V.; POVEDA, L.; VINDAS, P. S.; TRUDEAU, V. L.; ARNASON, J. T. Ethnopharmacology of Q'eqchi' Maya antiepileptic and anxiolytic plants: Effects on the GABAergic system. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v. 125, n. 2, p. 257-264. 2009.

BADKE, M. R.; BUDÓ, M. L. D.; ALVIM, N. A. T.; ZANETTI, G. D.; HEISLER, E. V. Saberes e práticas populares de cuidado em saúde com o uso de plantas

medicinais. **Texto & Contexto - Enfermagem**, Florianópolis, v. 21, n. 2, p. 363–370, 2012.

BARBOSA FILHO, J.; MEDEIROS, K. C. P.; DINIZ, M. F. F. M.; BATISTA, L. M.; ATAYDE FILHO, P. F.; SILVA, M. S.; CUNHA, E. V. L.; ALMEIDA, J. R. G. S.; QUINTANS JÚNIOR, L. J. Natural products inhibitors of the enzyme acetylcholinesterase. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 16, n. 2, p. 258-285, 2006.

BARCELLOS, J. P. A. **Potencialidade do uso de sistemas nanoestruturados contendo ácido ursólico para a otimização da terapia da doença de Chagas**. 2014. 64f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) — Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

BARRETO, M. A. M.; FERMOSELI, A. F. O. A importância do acompanhamento Psicológico sobre os indivíduos portadores de Doença de Parkinson e Parkinsonismo usuários de l-dopa. **Caderno de Graduação - Ciências Humanas e Sociais-UNIT**, Maceió, v. 4, n. 2, p. 29-38, 2018.

BERGAMIN, L. S. **Envolvimento do sistema purinérgico, da enzima ciclooxigenase 2 e sistema imune no desenvolvimento e progressão de glioblastoma multiforme e novas alternativas terapêuticas para esse tipo tumoral**. 2016. 230f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas: Bioquímica) — Instituto de ciências básicas da saúde departamento de bioquímica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

BERGER, A.; KOSTYAN, M. K.; KLOSE, S. I.; GASTEGGER, M.; LORBEER, E.; BRECKER, L.; SCHINNERL, J. Loganin and secologanin derived tryptamine-iridoid alkaloids from *Palicourea crocea* and *Palicourea padifolia* (Rubiaceae). **Phytochemistry**, London, v. 116, [s. n.], p. 162-169, 2015.

BONIFACIO, M. J.; COELHO, M. A. V.; SILVA, P. S. Kinetic inhibitory profile of BIA 3-202, a novel fast tight-binding, reversible and competitive Catechol-O-



methyltransferase inhibitor. **European Journal of Pharmacology**, Amsterdam, v. 460, n. 2-3, p.163-170, 2003.

BONIFACIO, M. J.; PALMA, P. N.; ALMEIDA, L.; SILVA, P. S. Catechol-O-methyltransferase and its inhibitors in Parkinson's disease. **CNS Drug Reviews**, Branford, v. 13, n. 3, p. 352–379, 2007.

BOTH, F. L. **Avaliação da atividade analgésica do alcaloide umbelatina isolado de *Psychotria umbellata* (Rubiaceae)**. 2001. 59f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) — Universidade do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

BRASIL. Ministério da Saúde. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução nº 90, 16 de março de 2004. Determina a publicação do guia para a realização de estudos de toxicidade pré-clínica de fitoterápicos**. Brasília, 2004. [online]. Disponível em: <<http://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?data=18/03/2004&jornal=1&pagina=34&totalArquivos=100>>. Acesso em: 29 abr. 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria n. 971, de 3 de maio de 2006. Aprova a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde. **Diário Oficial (da) República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 3 mai. 2006. n. 84. Seção I, p. 16.

BRASIL, Ministério da Saúde. RDC n.10, de 9 de março de 2010 aprova a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde. **Diário Oficial (da) República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 8 mar. 2010. n. 84. Seção I, p. 01.

BRUNETON, J. **Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants**. 2ed. Paris: Intercept,1999.

CARDOSO, E. L.; CRISPIM, S. M. A.; RODRIGUES, C. A. G.; BARIONI JUNIOR, W. Composição e dinâmica da biomassa aérea após a queima em savana

gramíneo-lenhosa no Pantanal. **Pesquisas Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n.11, p. 2309-2316, 2000.

CASTRO-CALDAS, A.; MENDONÇA, A. **A demência em números. A doença de Alzheimer e outras demências em Portugal**. Lisboa: Editora Lidel, 2005. 272p.

COELHO, C. P.; BARBOSA, A. A. A. Biologia reprodutiva de *Paulicorea macrobotrys* Ruiz e Pavon (Rubiaceae): um possível caso de homostilia no gênero *Paulicorea* Aubl. **Brazilian Journal of Botany**, São Paulo, v. 26, n. 3, p. 403-413, 2003.

COELHO, V. P. M.; AGRA, M. F.; BARBOSA, M. R. V. Pharmacobotanical study of the leaves of *Tocoyena formosa* (Cham. & Schldl.) K. Schum. Rubiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 16, n. 2, p. 170-177, 2006.

CONSOLARO H. N. **Uma destilidade em espécies de Rubiaceae do Bioma Cerrado**. 2008. 115f. Tese (Doutorado em Ecologia) — Universidade de Brasília, Brasília.

CHEN, D.; WANG, C. Y.; LAMBERT, J. D.; AI, N.; WELSH, W. J.; YANG, C. S. Inhibition of human liver Catechol-O-methyltransferase by tea catechins and their metabolites: structure–activity relationship and molecular-modeling studie **Biochemical Pharmacology**, Oxford, v. 69, n. 10, p. 1523–1531. 2005.

CRISPIM, S. M. A.; SANTOS, S. A.; CHALITA, L. V. A. S.; FERNANDES, A. H. B. M.; SILVA, M. P. Variação sazonal na frequência e composição botânica em área de máxima inundação, Pantanal-MS, Brasil. **Archivos Zootecnia**, Córdoba, v. 51, p.149-160, 2002.

ELISABETSKY, E.; AMADOR, T. A.; ALBUQUERQUE, R. R.; NUNES, D. S.; CARVALHO, A. C. Analgesic activity of *Psychotria colorata* (Willd. ex R. & S.)

Muell. Arg. alkaloids. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v. 48, n. 2, p. 77-83, 1995.

ELISABETSKY, E.; CASTILHOS, Z. C. Plants used as analgesic by Amazonian caboclos, as a basis for selecting plants for investigation. **International Journal of Crude Drug Research**, Amsterdam, v. 28, n. 4, p. 309-320, 1990.

FARIA, E. O. **Estudo Fitoquímico das folhas da *Psychotria prunifolia* (Kunth) Steyererm (Rubiaceae)**. 2009. 126f. Dissertação (Mestrado em Química) — Instituto de Química, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

FARIAS, F. M.; PASSOS, C. S.; ARBO, M. D.; BARROS, D. M.; GOTTFRIED, C.; STEFFEN, V. M.; HENRIQUES, A. T. Strictosidinic acid, isolated from *Psychotria myriantha* Mull. Arg. (Rubiaceae), decreases serotonin levels in rat hippocampus. **Fitoterapia**, Amsterdam, v. 83, n. 6, p. 1138-1143, 2012.

FARIAS, F. M. ***Psychotria myriantha* Müll. Arg. (Rubiaceae): caracterização dos alcaloides e avaliação da atividade antiqumiotóxica e sobre o sistema nervoso central**. Porto Alegre, UFRGS. 2006. 191f. Tese (Doutorado Ciências Farmacêuticas) — Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

FELITTO, G.; LOZANO, E. D.; CANESTRARO, B. K.; KERSTEN, R. A. Diversity and structure of the lower strata in two successional stages in a subtropical forest, Southern Brazil. **Hoehnea**, São Paulo, v. 44, n. 4, p. 490-504, 2017.

FELKER, R. M.; ROVEDDER, A. P. M.; LONGHI, S. J.; ARAUJO, E. F.; STEFANELLO, M. M.; SILVA JÚNIOR, J. C. C.; PROCKNOW, D.; HUMMEL, R. B.; PIAIA, B. B.; CAMARGO, B.; SILVA, M. P. K. L.; TOSO, L. D. Regeneração natural em área sob domínio de bambu, no sul do Brasil Regeneração natural em área sob domínio de bambu, no sul do Brasil. **Revista de Ciências Agrárias**, Lisboa, v. 41, n. 1, p. 82-92, 2018.

FERRAZ, H. B.; BORGES, V. Como diagnosticar e tratar doença de Parkinson. **Revista Brasileira de Medicina**, São Paulo, v. 59, n. 4, p. 207-219, 2012.

FINNIE, S. **The diagnostic potential of the olfactory stress test in Alzheimer's disease**. 2014. 144f. Dissertation (Master of Philosophy) — Faculty of Human Sciences, Macquarie University, Sydney.

FONSECA, D. A.; BACKES, A. R.; ROSENFELD, M. F.; OVERBECK, G. E.; MÜLLER, S. C. Evaluation of the natural regeneration in a restoration planting area and in a reference riparian forest. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 27, n. 2, p. 521-534, 2017.

FORMAGIO, A. S. N.; VOLOBUFF, C. R. F.; SANTIAGO, M.; CARDOSO, C. A. L.; VIEIRA, M. C.; PEREIRA, Z. V. Evaluation of antioxidant activity, total flavonoids, tannins and phenolic compounds in *Psychotria* leaf extracts. **Antioxidants**, Basel, v. 3, n. 4, p. 745-757, 2014.

FRECSKA E, BOKOR P, WINKELMAN M. The therapeutic potentials of ayahuasca: possible effects against various diseases of civilization. **Frontier in Pharmacology**, Lausanne v. 1, n. 7, p. 35, 2016.

GERLACH, S. L.; RATHINAKUMAR, R.; CHAKRAVARTY, G.; GORANSSON, U.; WIMLEY, W. C.; DARWIN, S. P.; MONDAL, D. Anticancer and chemosensitizing abilities of cycloviolacin O<sub>2</sub> from *Viola odorata* and psylecyclotides from *Psychotria leptothyrsa*. **Biopolymers**, New York, v. 94, n. 5, p. 617-625, 2010a.

GIL, G. F.; GIMENEZ, J. V.; SAUEZ, C. C. B. Drogas alucinógenas e sua detecção laboratorial. **Atas de Ciências da Saúde**, São Paulo, v. 2, n. 3, p. 1-14, 2014.

GONÇALVES, A. M. R. **Isoformas da enzima catecol-O-metiltransferase como alvo farmacológico na doença de Parkinson**. 2013. 83f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) — Faculdade de Medicina, Universidade de Lisboa, Covilhã.

GUARIM NETO, G. Plantas utilizadas na medicina popular cuiabana um estudo preliminar. **Revista da Universidade Federal de Mato Grosso**, Cuiabá, v. 4, n. 1, p. 45-50, 1984.

GUARIM NETO, G. **Plantas utilizadas na medicina popular do Estado de Mato Grosso**. Brasília: CNPq, 1987. 58p.

GUARIM NETO, G. Plants of Brazil: angiosperms of Mato Grosso state-Pantanal. **Acta Botânica Brasílica**, Feira de Santana, v. 5, n. 1, p. 25-47, 1991.

HENRIQUES, R. P. B. O futuro ameaçado do Cerrado brasileiro. **Ciência Hoje**, Rio de Janeiro, v. 33, n. 195, p. 34-39, 2003.

INGKANINAN, K.; TEMKITTHAWON, P.; CHUENCHOM, K.; YUYAEM, T.; THONGNOI, W. Screening for acetylcholinesterase inhibitory activity in plants used in Thai traditional rejuvenating and neurotonic remedies. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v. 89, n. 2-3, p. 261-264, 2003.

INIYAVAN, M.; SANGEETHA, D.; SARAVANAN, S.; PARIMELAZHAGAN, T. Evaluation of antioxidant and pharmacological properties of *Psychotria nilgiriensis* Deb & gang. **Food Science and Biotechnology**, Incheon, v. 21, n. 5, p. 1421-1431, 2012.

KADOWAKI, M.; OOTANI, E.; SUGIHARA, N.; FURUNO, K. Inhibitory Effects of catechin gallates on o-methyltranslation of protocatechuic Acid in Rat Liver cytosolic preparations and cultured hepatocytes. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, Tokyo, v. 28, n. 8, p. 1509-1513, 2005.

KATO, L.; OLIVEIRA, C. M. A.; FARIA, E. O.; RIBEIRO, L. C.; CARVALHO, B. G.; SILVA, C. C.; SCHUQUEL, I. T. A.; SANTIN, S. M. O.; NAKAMURA, C. V.; BRITTA, E. A.; MIRANDA, N.; INGLESIAS, A. H.; DELPRETE, P. G. Antiprotozoal alkaloids from *Psychotria prunifolia* (Kunth) steyerem. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 23, n. 2, p. 355-360, 2012.

KLEIN-JUNIOR, L. C.; VANDER HEYDEN, Y.; HENRIQUES, A. T. Enlarging the bottleneck in the analysis of alkaloids: A review on sample preparation in herbal matrices. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, Amsterdam [s. n.] v. 80, p. 66-82, 2016.

KLINK, C. A.; MACHADO, R. B. A conservação do Cerrado brasileiro. **Megadiversidade**, Brasília, v. 1, n. 1, p. 147-155, 2005.

KLINK, C. A.; MOREIRA, A. G. Past and current human occupation and land use. In: OLIVEIRA, P. S.; MARQUIS, R. J. (Eds.) **The Cerrado of Brazil. Ecology and natural history of a neotropical savanna**. New York: Columbia University Press, 2002. p. 69-88.

KOCH, A. K.; SILVA, P.; SILVA, C. A. Biologia reprodutiva de *Psychotria carthagenensis* (Rubiaceae), espécie distílica de fragmento florestal de mata ciliar, Centro-Oeste do Brasil. **Rodriguésia**, Rio Janeiro, v. 61, n. 3, p. 551-558, 2010.

KODANKO, J. J.; HIEBERT, S.; PETERSON, E. A.; SUNG, L.; OVERMAN, L. E.; MOURA LINCK, V.; GOERCK, G. C.; AMADOR, D. A.; LEAL, M. B.; ELISABETSKY, E. Synthesis of all-low energy stereoisomers of the tris (pyrrolidinoindoline) alkaloid hodgkinsine and preliminary assessment of their antinociceptive activity. **The Journal of Organic Chemistry**, Columbus, v. 72, n. 21, p. 7909-7914, 2007.

KUDLICKA, A.; CLARE, L.; HINDLE, J. V. Executive functions in Parkinson's disease: Systematic review and meta-analysis. **Movement disorders: official journal of the Movement Disorder Society**, New York, v. 26, n. 13, p. 2305-2315, 2011.

LAMEIRA, O. A. **Cultivo da Ipecacuanha [*Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes]**. Brasília: MAPA, 2002. 4p. Circular Técnica n. 28.

LEAL, M. B.; ELISABETSKY, E. Absence of alkaloids in *Psychotria carthagenensis* Jacq. (Rubiaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v. 54, n. 1, p. 37-40, 1996.

LIBOT, F.; MIET, C.; KUNESH, N.; POISSON, J. E. Rubiacées d'Océanie: alcaloides de *Psychotria oleoides* de Nouvelle-Calédonie et de *Calicodendron milnei* du Vanuatu (Nouvelles-Hébrides). **Journal of Natural Products**, Cincinnati, v. 50, [s. n.], p. 468-473, 1987.

LIMA, L. B. **Triagem da atividade antioxidante e anticolinesterásica de extratos naturais: seleção e estudo químico biomonitorado de *Streptomyces* sp. e de *Psychotria carthagenensis***. 2011. 129f. Dissertação (Mestrado em Ciências) — Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

LI, P.; JHONSON, M. O. Comparative floral morphometrics of distyly and homostyly in three evolutionary lineages of *Amsinckia* (Boraginaceae). **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 79, n. 11, p. 1332-1348, 2001.

LOPES, S.; POSER, G. L.; KERBER, V. A.; FARIAS, F. M.; KONRATH, E. L.; MORENO, P.; SOBRAL, M. E.; ZUANAZZI, J. A. S.; HENRIQUES, A. T. Taxonomic significance of alkaloids and iridoid glucosides in the tribe *Psychotrieae* (Rubiaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, Amsterdam, v. 32, n. 12, p. 1187-1195. 2004.

MANDEL, S.; WEINREB, O.; AMIT, T.; YODIM, M. B. Cell signaling pathways in the neuroprotective actions of the green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate: implications for neurodegenerative diseases. **Journal of Neurochemistry**, Oxford, v. 88, n. 6, p. 1555-1569. 2004.

MARONI, B. C.; DI STASI, L. C.; Machado, S. R. **Plantas medicinais do cerrado de Botucatu: guia ilustrado**. São Paulo: UNESP, 2006. 200p.

MCKENNA, D. J.; TOWERS, G. N.; ABBOTT, F. Monoamine oxidase inhibitors in South American hallucinogenic plants: tryptamine and beta-carboline

constituents of ayahuasca. **Journal Ethnopharmacology**, Limerick, v. 10, n. 2, p. 195–223, 1984.

MONKS, N. R.; BORDIGNON, S. A. L.; FERRAZ, A.; MACHADO, K. R.; FARIA, D. H.; LOPES, R. M.; MONDIN, C. A.; SOUZA, I. C. C.; LIMA, M. F. S.; ROCHA, A. B.; SCHWARTSMANN, G. Anti-tumour screening of Brazilian plants. **Pharmaceutical Biology**, Hilo, v. 40, n. 8, p. 603-616, 2002.

MORAES, T. M.; ARAÚJO, M. H.; BERNARDES, N. R.; OLIVEIRA, D. B.; LASUNSKAIA, E. B.; MUZITANO, M. F.; CUNHA, M. Antimycobacterial activity and alkaloid prospection of *Psychotria* species (Rubiaceae) from the Brazilian Atlantic rainforest. **Planta Medica**, New York, v. 77, n. 9, p. 964-970, 2011.

MOURA, L. T. S.; MARUO, V. M. Aspectos farmacológicos e toxicológicos de *Psychotria colorata*—revisão. **Revista Científica de Medicina Veterinária**, Curitiba, v. 12, n. 23, p. 1-16, 2014.

NEPOKROEFF, M.; BREMER, B.; SYTSMA, K. J. Reorganization of the genus *Psychotria* and tribe Psychotrieae (Rubiaceae) inferred from ITS and rbcL sequence data. **Systematic Botany**, Laramie, v. 24, n. 1, p. 5-27, 1999.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products as sources of new drugs from 1981 to 2014. **Journal of Natural Products**, Cincinnati, v. 79, n. 3, p. 629-661, 2016.

PASSOS, C. S.; SIMÕES-PIRES, C. A.; NURISSO, A.; SOLDI, T. C.; KATO, L.; OLIVEIRA, C. M.; FARIA, E. O.; MARCOURT, L.; GOTTFRIED, C.; CARRUPT, P. A.; HENRIQUES, A. T. Indole alkaloids of *Psychotria* as multifunctional cholinesterases and monoamine oxidases inhibitors. **Phytochemistry**, London, v. 86, [s. n.], p. 8-20, 2013a.

PASSOS, C. S.; SOLDI, T. C.; TORRES, A. R.; ANDERS, A. M.; SIMÕES-PIRES, C.; MARCOURT, L.; GOTTFRIED, C.; HENRIQUES, A. T. Monoamine oxidase inhibition by monoterpene indole alkaloids and fractions obtained from



*Psychotria suterella* and *Psychotria laciniata*. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, Basingstoke, v. 28, n. 3, p. 611-618, 2013b.

PAUL, J. H.; MAXWELL, A. R.; REYNOLDS, W. F. Novel bis (monoterpenoid) indole alkaloids from *Psychotria bahiensis*. **Journal of Natural Products**, Cincinnati, v. 66, n. 6, p. 752-754, 2003.

PEREIRA, M. F. C. **Cuidadores informais de doentes de Alzheimer: sobrecarga física, emocional e social e psicopatologia**. 2011. 205f. Dissertação (Mestrado em Ciências de Enfermagem) — Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar - ICBAS, Universidade de Lisboa, Lisboa.

PIRES, A.; OLIVEIRA, C.; YONAMINE, M. Ayahuasca: uma revisão dos aspectos farmacológicos e toxicológicos. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, São Paulo, v. 31, n. 1, p. 15-23, 2010.

QUEIROZ, G. S. **Estudo fitoquímico e biológico das frações alcalóidicas de espécies de *Psychotria* (Rubiaceae) aplicando técnicas hífenadas de HPLC**. 2017. 287f. Tese (Doutorado em Química) — Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

RIVER, L.; LINDGREN, J. E. Ayahuasca, South American hallucinogenic drink – ethnobotanical and chemical investigation. **Economic Botany**, London, v. 26, n. 2, p. 101-129, 1972.

SARRIS, J.; MCINTYRE, E.; CAMFIELD, D. A. Plant-based medicines for anxiety disorders, part 2: a review of clinical studies with supporting preclinical evidence. **CNS drugs**, Branford, v. 27, n. 4, p. 301-319, 2013.

SILVA, A. F.; RABELO, M. F. R.; ENOQUE, M. M. Diversidade de angiospermas e espécies medicinais de uma área de Cerrado. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Paulínia, v. 17, n. 4, p. 1016-1030, 2015.

TAYLOR, C.; CAMPOS, M. T. V. A.; ZAPPI, D. Flora da reserva Ducke,

Amazonas, Brasil: Rubiaceae. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 58, n. 3, p. 549-616, 2007.

TAYLOR, C. M. Overview of Psychotrieae (Rubiaceae) in the Neotropics. **Opera Botanica Belgica**, Devon, v. 7, [s. n.], p. 261-270, 1996.

TAYLOR, C. **Psychotria in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2012, [online]. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB74043>>. Acesso em: 23 out. 2018.

TAYLOR, C. M.; STEYERMARK, J. A.; DELPRETE, P. G.; VICENTINI, A.; CORTÉS, R.; ZAPPI, D.; PERSSON, C.; COSTA, C. B.; E. A.; ANUNCIACÃO, E. A. Rubiaceae. In: STEYERMARK, J. A.; BERRY, P. E.; YATSKIEVYCH, K.; HOLST, B. K. (eds.). **Flora of the Venezuelan Guayana**. St. Louis: Missouri Botanical Garden Press, 2004. Vol. 8. p. 497-848.

TOKARNIA, C. H.; JÜRGEN, D.; PEIXOTO, P. V. **Plantas tóxicas do Brasil**. Rio de Janeiro: Helianthus, 2000. 310p.

TOUCHON, J.; PORTET, F. **Guia prático da Doença de Alzheimer**. 1ed. Lisboa: Climepsi Editores, 2002. p. 176

TREVISAN, M. T. S.; MACEDO, F. V. V. Seleção de plantas com atividade anticolinesterase para tratamento da doença de Alzheimer. **Química Nova**, São Paulo, v. 26, n. 3, p. 301-304, 2003.

VEROTTA, L.; ORSINI, F.; SBACCHI, M.; SCHEILDLER, M. A.; AMADOR, T. A.; ELISABETSKY, E. Synthesis and Antinociceptive Activity of Chimonanthines and Pyrrolidinoindoline-Type Alkaloids. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, Oxford, v. 10, n. 7, p. 2133–2142, 2002.

VEROTTA, L.; PILATI, T.; TATO, M.; ELISABETSKY, E.; AMADOR, T. A.; NUNES, D. S. Pyrrolidinoindoline alkaloids from *Psychotria colorata*. **Journal of**

**Natural Products**, Cincinnati, v. 61, n. 3, p. 392-396, 1998.

VITARELLI N. C.; SANTOS M. Stipule and colleter anatomy of *Psychotria carthagenensis* Jacq. (Rubiaceae). **Acta Botânica Brasileira**, São Paulo, v. 23, n. 4, p. 923-928, 2009.

## 6. Artigos

### Artigo I

**Toxicidade e efeito inibitório da acetilcolinesterase de *Psychotria carthagenensis* Jacq., Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil**

**Giovana Coutinho Zulin Nascimento**

### Resumo

*Psychotria carthagenensis* Jacq., é utilizada como ingrediente da *Ayahuasca*, bebida alucinógena consumida em rituais religiosos. Efeitos da sua toxicidade *in vivo* têm sido relatados com a utilização da infusão da planta. Este estudo objetivou avaliar os efeitos do extrato aquoso das folhas frescas e secas de *P. carthagenensis* na espécie *Rattus norvegicus*, as alterações bioquímicas decorrentes da administração dos extratos, a expressão da enzima acetilcolinesterase (AChE) e relacionar com os constituintes químicos. As análises químicas do extrato aquoso mostraram a presença majoritária de esteróides, compostos fenólicos e alcaloides. Para os ensaios pré-clínicos, após a aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal, foram preparadas duas infusões com folhas secas e frescas da planta, administradas em *Rattus norvegicus*, via gavagem diariamente por 15 dias na concentração de  $200 \mu\text{g kg}^{-1}$  de peso do animal, divididos em 4 grupos: planta fresca, planta seca, controle negativo (água) e controle positivo (clonazepam=  $0,5\text{mg kg}^{-1}$  de peso do animal). Os efeitos da toxicidade foram avaliados através das análises bioquímicas coletadas do sangue, dosagem da enzima AChE e análises histológicas do fígado e rins. Através da dosagem de Alanina aminotransferase (ALT) e Asparto aminotransferase (AST), foi verificada uma tendência no aumento da produção de enzimas hepáticas, porém sem achados morfofuncionais. A análise histológica dos rins e fígado não evidenciaram alterações patológicas. Entretanto, as infusões de folhas secas inibiram os níveis da AChE o que demonstra um potencial farmacológico para atuar no tratamento de doenças neurodegenerativa como o Mal de Alzheimer e Parkinson.

**Palavras-chave:** Fitoquímica de plantas medicinais, Ensaios clínicos, Colinesterases, Biologia tecidual.

## Abstract

### **Toxicity and inhibitory effect of acetylcholinesterase from *Psychotria carthagenensis* Jacq., Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil.**

*Psychotria carthagenensis* Jacq., is used as an ingredient in *Ayahuasca*, a hallucinogenic drink consumed in religious rituals. Effects of its *in vivo* toxicity have been reported with the use of plant infusion. The objective of this study was to evaluate the effects of the aqueous extract of the fresh and dry leaves of *P. carthagenensis* on the species *Rattus norvegicus*, the biochemical changes resulting from the administration of the extracts, the expression of the enzyme acetylcholinesterase (AChE) and to relate to the chemical constituents. The chemical analyzes of the aqueous extract showed the presence of steroids, phenolic compounds and alkaloids. For the pre-clinical trials, after the approval of the Committee on Ethics in Animal Experimentation, two infusions were prepared with fresh and dried leaves of the plant, administered in *Rattus norvegicus*, via gavage daily for 15 days at a concentration of 200  $\mu\text{g kg}^{-1}$  of The animals were divided into 4 groups: fresh plant, dry plant, negative control (water) and positive control (clonazepam = 0.5mg  $\text{kg}^{-1}$  animal weight). The effects of toxicity were evaluated through biochemical analyzes in the blood, AChE enzyme dosage and histological analyzes of the liver and kidneys. Through the dosage of Alanine aminotransferase (ALT) and Aspartato aminotransferase (AST), a tendency was observed in the increase of the production of liver enzymes, but without morphofunctional findings. Histological analysis of the kidneys and liver did not show pathological alterations. However, dry leaf infusions inhibited AChE levels, which demonstrates a pharmacological potential to act in the treatment of neurodegenerative diseases such as Alzheimer's and Parkinson's.

**Keywords:** *P. carthagenensis*, Phytochemistry, Clinical Trials, Cholinesterases, Tissue Biology.

## Introdução

A espécie arbustiva *Psychotria carthagenensis* (Rubiaceae), classificada anteriormente como *Palicourea deflexa*, é uma planta pioneira, comum em áreas do Pantanal e Cerrado sul-mato-grossense (SOUZA e MONTEIRO, 2005; KOCH, 2010; TAYLOR *et al.*, 2015). Como ocorre com frequência em épocas de seca, quando a disponibilidade de forrageiras é menor, é consumida pelos

bovinos, levando a sua intoxicação na região pantaneira (NASCIMENTO *et al.*, 2007), onde é conhecida como Sanhaçaiba ou erva-de-galha (MIMAKI *et al.*, 2001).

Apesar de sua toxicidade, a planta é utilizada na medicina popular como anti-epiléptica (CARDOSO *et al.*, 2000; CRISPIM *et al.*, 2002; KOCH *et al.*, 2010). Nas regiões centro-oeste, norte e nordeste do Brasil, além de outros países da América do Sul, é usada em cultos e rituais religiosos como alucinógena (MCKENNA *et al.*, 1984) e por algumas populações indígenas, com propósito medicinal e ritualístico (ASSIS e RODRIGUES, 2018.)

Investigações científicas demonstraram a eficácia de seus extratos como: anti-inflamatória, antitumoral e anticancerígena (ELISABETSKY, 1995; BARCELLOS, 2014; BERGAMIN, 2016). A toxicidade e os efeitos alucinógenos desta planta foram relacionados aos alcaloides, os monoterpenos indólicos (dimethyltriptamina e 2-metil-1, 2, 3, 4 tetra hidro- $\beta$ -carbolina), isolados também, de outras espécies de *Psychotria* (VALVERDE *et al.*, 1999; SANTOS *et al.*, 2001; KERBER *et al.*, 2001; DUSMAN *et al.* 2004; KERBER *et al.*, 2008; BERGER *et al.*, 2015), como a *P. viridis*, cujas as folhas *in natura* ou secas são utilizadas na preparação da bebida alucinógena *Ayahuasca*, porém em algumas regiões brasileiras a *P. viridis* é substituída pela *P. carthagenensis* para o preparo da *Ayahuasca* (LEAL e ELISABETSKY, 1996).

No Brasil, o uso desta bebida, bem como, pesquisas de sua utilização terapêutica, em caráter experimental, foram oficialmente reconhecidos e protegidos por lei em 2004 (BRASIL, 2004). A oficialização foi necessária, pois várias seitas religiosas, dentre elas o Santo Daime, Santa Maria, União do Vegetal e Barquinha surgiram no país, misturando elementos do cristianismo e de religiões africanas ou indígenas e fazem uso da bebida como alucinógeno (FRESCKA *et al.*, 2016).

Por estas características, a *Ayahuasca* foi investigada quanto ao potencial terapêutico para o tratamento de algumas doenças, tais como ansiedade (SARRIS *et al.* 2013), depressão (ANDERSON, 2012) e também para a prevenção do abuso de drogas (VARGAS-PEREZ e DOBLIN, 2013). Embora os alcaloides presentes na planta para o preparo da *Ayahuasca* tenham efeitos alucinógenos e estejam presentes em outras espécies de *Psychotria*, a eles foram atribuídos a capacidade de inibir os distúrbios neurodegenerativos

relacionados às enzimas, como monoamina oxidases, catecol-*O*-etiltransferase e colinesterases (PASSOS *et al.*, 2013, 2015; KLEIN-JUNIOR *et al.*, 2016). Estes achados permitem apontar que esse grupo de metabólitos estão envolvidos na neurotransmissão serotoninérgica.

Estas informações sugerem que as plantas deste *Gênero* possam atuar como neurotransmissores e conseqüentemente, inibir a enzima AChE o que pode favorecer no tratamento de doenças neurodegenerativas, como por exemplo, Alzheimer (PASSOS *et al.*, 2013).

Embora *P. carthagenensis* possa ter efeitos tóxicos, é necessário investigar uma dose que possibilite a inibição da AChE e não apresente efeitos em órgão vitais como fígado e rins. Com isto, objetivou-se avaliar os efeitos do extrato das folhas frescas e secas de *P. carthagenensis* em espécie *Rattus norvegicus*, as alterações bioquímicas decorrentes da administração dos extratos e a expressão da enzima AChE e relacionar com os constituintes químicos presentes na planta.

## **Material e Métodos**

### **Coleta do material vegetal e análise fitoquímica**

A coleta das folhas de *Psychotria carthagenensis* foi realizada na Reserva da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (-20.499559 S, -54.613459 W). As folhas, após secagem em estufa circuladora de ar 40 °C (MARCONI®, Modelo MA35), foram trituradas em moinho de facas de aço inoxidável (MARCONI®, Modelo MA048).

Para determinação das classes de metabólitos secundários, foi preparado o extrato aquoso do material botânico, utilizando 200 g do pó das folhas secas. Primeiramente, a solução foi submetida a banho de ultrassom (UNIQUE®, Modelo 1450) por duas horas, seguido de maceração estática por 24 horas. O solvente foi eliminado em rota evaporador para obtenção do extrato bruto aquoso (ExtH<sub>2</sub>O), este procedimento foi realizado até esgotamento da droga vegetal.

O extrato ExtH<sub>2</sub>O foi diluído no respectivo solvente (20%) e submetido à análise química clássica, seguindo metodologia adaptada de Matos (2009). As análises foram executadas triplicatas e os resultados comparados e contrastados observando a alteração de cor e precipitação com o extrato ExtH<sub>2</sub>O original. A leitura dos resultados seguiu o protocolo Fontoura *et al.* (2015), com

base na alteração de cor, intensidade e formação de precipitado, sendo classificadas como: parcial ( $\pm = 10\%$ ), baixa intensidade ( $+ = 25\%$ ), mediamente moderada ( $++ = 50\%$ ), moderado ( $\pm\pm\pm = 75\%$ ), alta intensidade ( $+++ = 100\%$ ) e, negativa ( $- = 0\%$ ).

A confirmação dos grupos químicos foi realizada por varredura no espectro de UV-visível, utilizando uma alíquota de  $10 \text{ mg mL}^{-1}$  do extrato bruto o espectro de absorção foi determinado na faixa de comprimento de onda de 200 a 600 nm.

Os teores de fenóis totais (FT) foram determinados pelo Método Folin-Ciocalteu's, utilizando 100 mg do extrato. A absorbância foi medida em espectrofotômetro na região de 750 nm, seguindo a metodologia de Sousa *et al.* (2007), em cubetas de quartzo. A análise foi executada por interpolação da absorbância das amostras contra uma curva de calibração, construída com padrões de ácido gálico ( $\text{EAG } 10 \text{ a } 300 \mu\text{g mL}^{-1}$ ).

Para quantificação de flavonoides, o extrato (100 mg) foi submetido a metodologia descrita por Sobrinho *et al.* (2008), utilizando como padrão a quercetina ( $\text{QE} = 0,5 \text{ mg mL}^{-1}$ ) para construir a curva de calibração nas concentrações de 0,04; 0,2; 0,4; 2; 4; 8; 12; 16; e,  $20 \mu\text{g mL}^{-1}$ . As análises foram realizadas por espectrofotometria, comprimento de onda de 420 nm, em cubetas de quartzo.

### **Ensaio biológico com ratos *Wistar***

Os espécimes de *Rattus norvegicus*, linhagem *Wistar* de idade juvenil, foram adquiridos do Biotério da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, sendo aclimatados no biotério da Unidade Agrárias, Universidade Anhanguera–Uniderp, por 15 dias. A condução do experimento seguiu os protocolos experimentais e obedeceram aos atuais preceitos éticos e técnicos bem como contou com a aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal da Anhanguera Uniderp, sob número 3045 aprovado no dia 03 de novembro de 2017 (BRASIL, 2004; BRASIL, 2018).

### **Dieta e Tratamento**

Foram utilizados ratos *Wistar* albinos (*Rattus norvegicus*) adultos, entre 08 a 12 semanas de vida e peso entre 300 - 400 g. Os animais foram mantidos



no laboratório com exaustor e temperatura entre 23 °C a 25 °C, em gaiolas plásticas em (49x31x21cm) e alimentados com ração Nuvital© e água filtrada *ad libitum* com ciclo claro/escuro de 12 h.

### **Preparo do extrato aquoso de *P. carthagenensis***

A dose para o preparo do extrato aquoso foi de 200  $\mu\text{g kg}^{-1}$  animal, uma vez que doses superiores já foram testadas (1000  $\text{mg kg}^{-1}$ , 500  $\text{mg kg}^{-1}$  e 300  $\text{mg kg}^{-1}$  animal) e apresentaram efeitos de sedação e toxicidade (LEAL e ELISABETSKY, 1996).

Foram preparados diariamente 2 extratos, o primeiro com 50 mL de água destilada para uma infusão contendo folha fresca (PF) de *P. carthagenensis* e o outro contendo 50  $\text{mL}^{-1}$  de água destilada contendo folha seca (PS) de *P. carthagenensis*, deixado em descanso por 20 minutos para posterior administração.

O delineamento experimental foi de vinte e quatro ratos distribuídos aleatoriamente em quatro grupos de seis animais: grupo controle positivo (C+) = 1mL de solução de clonazepam 0,5  $\text{mg kg}^{-1}$  animal mais via gavagem; grupo controle negativo (C-) = 1  $\text{mL}^{-1}$  de Água mais via gavagem, grupo experimental testado com a infusão da planta fresca 200  $\mu\text{g kg}^{-1}$  animal mais via gavagem e grupo experimental testado com a planta seca 200  $\mu\text{g kg}^{-1}$  animal mais via gavagem.

O delineamento experimental foi de vinte e quatro ratos distribuídos aleatoriamente em quatro grupos de seis animais: grupo controle positivo (C+) = 1mL de solução de clonazepam 0,5  $\text{mg kg}^{-1}$  animal mais via gavagem; grupo controle negativo (C-) = 1  $\text{mL}^{-1}$  de Água mais via gavagem, grupo experimental testado com a infusão da planta fresca 200  $\mu\text{g kg}^{-1}$  animal mais via gavagem e grupo experimental testado com a planta seca 200  $\mu\text{g kg}^{-1}$  animal mais via gavagem.

Durante o período do experimento os animais foram observados diariamente para verificar os efeitos da toxicidade e letalidade. A coleta do sangue para análises bioquímicas e dosagem de AChE ocorreu no 15º dia após o início dos testes e posterior à eutanásia.

## **Análises Bioquímicas**

Amostras de 5 mL<sup>-1</sup> de foram coletadas antes da eutanásia dos animais, por punção cardíaca para determinação do volume total (hematócrito) (SOARES *et al.*, 2010; SUAREZ *et al.*, 2010).

As amostras, imediatamente, após a coleta, foram transferidas para o tubo de hemólise contendo 0,38 mL de solução fisiológica de cloreto de sódio e mantidas em banho de gelo. O plasma diluído foi separado por centrifugação a 2000 r.p.m., temperatura de 5 °C, por 10 minutos utilizando as alíquotas de 0,05 mL na reação. As absorvâncias foram determinadas em 540 nm bem como os níveis plasmáticos (AMORIM e PEREIRA, 1992).

As análises da função hepática foram realizadas pela dosagem dos níveis de ALT e AST e da função renal pela dosagem de ureia e ácido úrico, ambas com kits da marca Gold Analisa® e espectrofotômetro Bioplus 200®.

## **Quantificação da Colinesterase Sérica**

A dosagem de acetilcolina (ACh) foi realizada através quantificação da colinesterase sérica. As colinesterases são enzimas da família das esterases, que realizam a hidrólise de ésteres carboxílicos e estão localizadas majoritariamente na membrana das células pós-sinápticas das terminações nervosas (RANG *et al.*, 2012), onde realizam a hidrólise da acetilcolina. A acetilcolina é um neurotransmissor que atua tanto no sistema nervoso central, quanto no sistema nervoso periférico (AMENTA e TAYEBATI, 2008). Quando ocorre o envio de um potencial de ação, na sinapse, a membrana da vesícula contendo acetilcolina se funde com a membrana plasmática da célula pré-sináptica e ocorre liberação de acetilcolina na fenda sináptica VENTURA *et al.*, 2010). Quando ocorre o bloqueio da enzima acetilcolinesterase o neurotransmissor acetilcolina se acumula na fenda sináptica, podendo acarretar até mesmo na morte do organismo, uma vez que há uma hiperexcitação do neurônio pós-sináptico do sistema nervoso parassimpático ou autônomo (RANG *et al.*, 2012). Em vertebrados a inibição da colinesterase pode causar convulsões, inconsciência, secreção glandular excessiva e falência respiratória, podendo levar à morte, enquanto que em invertebrados há uma hiperexcitação e morte por exaustão (ČOLOVIĆ *et al.*, 2013). A enzima acetilcolinesterase (AChE) é utilizado como marcador bioquímico de neurotoxicidade e está

envolvida diretamente no processo de neurotransmissão. O princípio do método utilizado está estabelecido na reação colorimétrica, onde a colinesterase sérica hidrolisa a propioniltiocolina, liberando o tiocolina que reage com o ácido 5,5-ditiobis-2-nitrozóico (DTNB, reagente de cor) levando a formação de um composto amarelo com absorção a 410nm (SOBOCISKIN e MCDEVITT, 1972; SANTOS e MOSTARDEIRO, 2008)

### **Cálculo do fator de calibração**

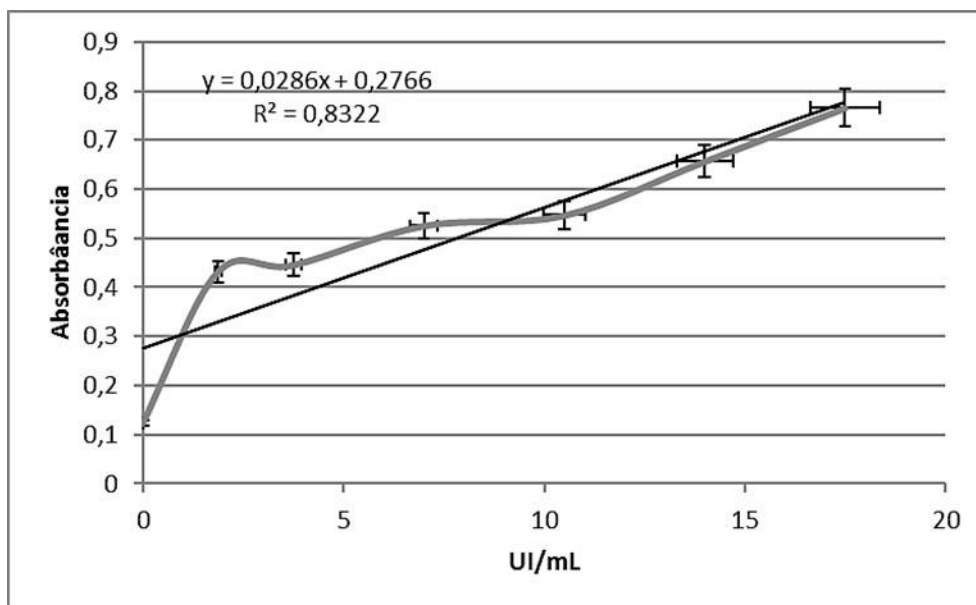
Um teste inicial de sensibilização para estabelecer o fator de calibração foi realizado, utilizando 3 réplicas contendo água destilada ( $4,0 \text{ mL}^{-1}$ ), reagente de cor ( $3,0 \text{ mL}^{-1}$ ) e enzima em pó reconstituída ( $20 \mu\text{L}^{-1}$ ) estabelecida com  $7 \text{ UI mL}^{-1}$ , associado foi acompanhado por um controle branco (negativo) contendo apenas água e reagente de cor nas mesmas condições. O material foi homogeneizado e lido na faixa do azul ou 410 nm, tendo o espectro sido zerado com o controle branco.

Os valores da leitura obtidos em absorbância foram expressos em valor médio, o qual foi aplicado na fórmula descrita a seguir, já tendo definido o valor de 7 como as unidades presentes em cada mL da solução enzimática.

### **Curva de calibração**

A curva demonstra a linearidade da reação até um valor máximo que atende a Lei de Beer. Representada pela relação entre os valores de absorbância (y) contra os valores das concentrações da diluição da enzima (x), estes são avaliados quando a regressão linear com estabelecimento da equação da reta e determinação do coeficiente de correlação ( $r^2$ ).

Os valores das diluições foram estabelecidos em 0, 1,875, 3,75, 7,0, 10,5, 14,0 e 17,5  $\text{UI mL}^{-1}$ , considerando o valor para o cálculo do fator de calibração fixo em  $7 \text{ UI mL}^{-1}$  (Figura 1).



**Figura 1.** Curva de calibração dos padrões utilizados para quantificação da dosagem da enzima, AChE.

### Determinação da inibição enzimática

A inibição enzimática foi estabelecida numa reação contendo as formulações na concentração de  $1 \text{ g L}^{-1}$ , em triplicata para cada produto avaliado. Os ensaios foram realizados em temperatura controlada de  $37 \text{ }^{\circ}\text{C}$  e atividade enzimática estabelecida em  $7 \text{ UI mL}^{-1}$ . Nos ensaios  $1,0 \text{ mL}^{-1}$  de propioniltiocolina,  $3,0 \text{ mL}^{-1}$  de DTNB e  $20 \text{ } \mu\text{L}^{-1}$  da amostra foi submetido a aquecimento em banho-maria por 2 minutos e 30 segundos para induzir a quebra do substrato e reação com a amostra testada.

Logo após o material foi homogeneizado e adicionado  $20 \text{ } \mu\text{L}^{-1}$  de solução enzimática, esperado um tempo de 30 segundos e retorno ao banho por mais 30 segundos com adição de  $3,0 \text{ mL}^{-1}$  de solução inibidora da reação. O material foi então homogeneizado e submetido a leitura em espectrofotômetro a  $410 \text{ nm}$ , imediatamente ao tempo determinado da reação. O equipamento foi previamente zerado com uma solução contendo apenas água e reagente de cor.

Cada bateria de teste, foi acompanhado e conduzido em conjunto com um teste padrão positivo contendo substrato, reagente de cor, e enzima, e outro definido como padrão negativo contendo reagente de cor e amostra. O padrão negativo foi estabelecido para eliminar possíveis contaminações e viés de quantificações de falso-positivo.

## Determinação da inibição enzimática e análise estatística

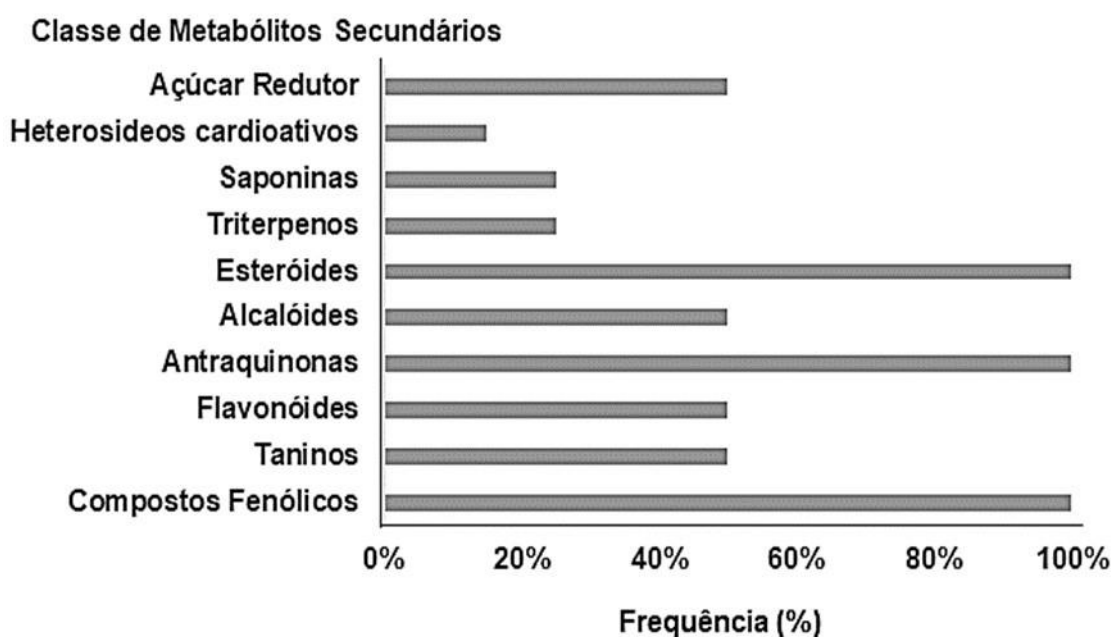
Os valores de absorvância encontrados para as réplicas (Testes), foram tratados e comparados em termos de valores com estabelecimento do desvio padrão (s) e do coeficiente de variação (%).

## Resultados e Discussão

### Análise Fitoquímica

O extrato ExtH<sub>2</sub>O das folhas de *P. carthagenensis*, mostrou resultados positivos para compostos fenólicos, taninos, flavonoides, alcaloides, açúcares redutores, esteroides, triterpenos e antraquinonas (Figura 2), com destaque aos compostos fenólicos, antraquinonas e esteroides

O teor de fenóis totais foram de 170,00 ± 0,01 mg e de flavonoides, 78,82 ± 0,0,16 mg, valores considerados elevados, quando comparados com outras espécies descritas na literatura do gênero *Psychotria* (DEVADOSS *et al.*, 2013; FORMAGIO *et al.*, 2014; NASCIMENTO *et al.*, 2015).



**Figura 2.** Análise química do extrato aquoso de folhas de *Psychotria carthagenensis*, coletadas em Campo Grande, Mato Grosso do Sul.

Estes resultados apontam que a planta possui potencial antioxidante, logo os compostos fenólicos, apresentam atividade de oxirredução, ou seja, quando

há uma troca entre moléculas, de ganho (oxidação), ou perda (redução) de elétrons (ALVES *et al.*, 2010). Esta troca de elétrons está relacionada as alterações biológicas e processos celulares, alterações no equilíbrio químico e como consequência haverá formação de radicais livres (COTINGUIBA *et al.*, 2013). Logo os compostos fenólicos e flavonoides estabilizam as trocas de elétrons sugerindo ação antioxidante e como consequência diminuindo a formação de processos degenerativos metabólicos. Os flavonoides são utilizados em vários processos farmacológicas como antitumoral, antioxidante e antiviral (SIMOES, 2003), o que confere efeito proteção celular.

De acordo com a atual classificação sistemática, o gênero *Psychotria* é colocado dentro da subfamília Rubioideae (ROBBRECHT e MANEN, 2006), considerando as antraquinonas como marcadores taxonômicos (BOLZANI *et al.*, 2001). Ressaltando-se que cada subfamília de Rubiaceae possui marcadores taxonômicos característicos.

A família Rubiaceae possui uma diversidade de metabólitos secundários como os iridóides, alcaloides indólicos, antraquinonas e flavonoides, além de, outros derivados fenólicos e terpenóides (GADZA, 2004). Este perfil químico está de acordo com o do extrato ExtH<sub>2</sub>O das folhas de *P. carthagenensis*, exceto para os iridóides.

Os esteroides também são citados para outras espécies do gênero, o que corrobora com nossos achados. Este grupo químico, atua a nível de membrana celular, isto ocorre pelas características hidrofóbica (grupo esteroidal e triterpênico), do esqueleto básico que facilita a penetração na membrana celular e dentro da célula a parte polar (glicosídica) contribui para a solubilidade das moléculas. O metabolismo das saponinas, que apresentam formato esteroidal ou triterpênicas podem gerar a liberação da aglicoma e com isto estes grupos atuarem de forma toxica (ATHAYDE *et al.*, 2017).

Em outras espécies de *Psychotria*, também foram isoladas saponinas triterpênicas que em bioensaios *in vivo* mostraram que todos os triterpenóides testados reduziram a viabilidade de células cancerígenas e a morte celular apoptótica (ZHANG *et al.*, 2013). A atividade citotóxica das saponinas, se por um lado, são importantes para a morte das células cancerígenas, por outro podem ser prejudiciais ao organismo, se consumido em grande quantidade,

apresentando feitos colaterais nocivos, hemólise e tóxico ao meio ambiente (peixes).

Foi detectada através de triagem fitoquímica de plantas nativas do Uruguai, dentre elas a *P. carthagenensis*, a presença de triterpenos, esteróides, flavonoides, terpenos de baixo peso molecular, saponinas, glicosídeos, antocianinas e taninos (BERTUCCI *et al.*, 2008), mesmas características químicas apresentadas no presente em Mato Grosso do Sul, no Brasil.

Os heterosídeos cardiotônicos, são esteroides constituídos em seu esqueleto básico por hidroxilas que podem ser glicosiladas, produzindo os heterosídeos cardiotônicos, importantes agentes terapêuticos para doenças cardiovasculares (RATES *et al.*, 2017). Os heterosídeos são mais potentes do que as geninas correspondentes, porém tem efeito similar de toxicidade e a porção aglicona retém a atividade cardíaca mesmo quando isolada, já o glicosídeo por sua solubilidade facilita a absorção e distribuição das moléculas.

Já os açúcares redutores, normalmente não são translocados no floema (TAIZ e ZEIGER, 2013), contudo o seu acúmulo deve ocorrer como amino, desoxiaçúcares, açúcares metilados e açúcares com cadeia carbônica ramificada), produtos da oxidação ou redução de outros metabólitos (KREIS *et al.*, 2017), como as saponinas e os heterosídeos cardiotônicos que sofrem hidrólise com o processo de extração e liberar o glicosídeo (ATHAYDE *et al.*, 2017; RATES *et al.*, 2017) o que justifica a presença destes açúcares no extrato avaliado.

Contudo nesta espécie, dos constituintes encontrados, os alcaloides são citados para diversas espécies do Gênero, como: *Psychotria correa* (ACHENBACH *et al.*, 1995), *P. brachyceras* (KERBER *et al.*, 2001), *P. myriantha* (FARIAS, 2006), *P. prunifolia* (FARIA, 2009), *P. calocarpa* (ZHOU *et al.*, 2010), *P. stachyoides* (PIMENTA *et al.*, 2010). Estudos realizados com as espécies *P. correa* por Achenback *et al.* (1995), *P. alba*, *P. barbiflora*, *P. brachyceras*, *P. deflexa*, *P. hancorniiifolia*, *P. kleinii*, *P. leiocarpa*, *P. longipes*, *P. myriantha*, *P. nuda*, *P. pleiocephala*, *P. pubigera*, *P. suterellae* *P. umbellata* por Lopes *et al.*, (2004), *P. ipecacuanha* por Garcia *et al.*, (2011), *P. umbellata* por Both (2005), *P. myriantha* por Farias (2006), *P. prunifolia* por Faria (2009), *P. brachyceras* por Porto (2009), *P. stachyoides* por Pimenta *et al.* (2010) e *P. calocarpa* por Zhou

*et al.* (2010) revelaram a presença de alcaloides, em sua maioria indol monoterpênicos.

Em diferentes espécies de *Psychotria* já foram descritas atividades biológicas dos alcaloides isolados como: analgésica inespecífica em ratos e camundongos (extrato *P. leiocarpa*) e de dose-dependente (extrato *P. myriantha*) (ELISABETSKY *et al.*, 1995; FRAGOSO, 2007; FARIAS, 2006), ação alucinógena (DE SOUZA, 2011); hepatotóxica em ratos (ROTH *et al.*, 1986); anti-inflamatórias (NASCIMENTO *et al.*, 2007); analgésica e antidepressiva (BOTH *et al.*, 2005).

Em relação ao peso dos ratos (Tabela 1), constatou-se que ocorreu alteração no peso dos animais relacionados ao grupo controle negativo, 13% a maior. Os outros grupos apresentaram menor aumento, o que pode estar associada ao efeito sedativo ou antidepressivo causada pelo controle positivo e extratos testes. O consumo de água e alimentos poderá ser alterados quando há presença de estresse ou dor, com a redução desses consumos indicam alterações homeostáticas no animal (quando há redução do consumo de água), podendo gerar desidratação (FRAGOSO, 2007; BOTH *et al.*, 2005; FARIAS, 2006).

Nos 15 dias do experimento, os animais testados consumiram menos água do que o controle negativo, quantidade esta considerada habitual para consumo diário normal da espécie (15mL100g de peso) (LAPCHIK *et al.*, 2010).

### **Observações macroscópicas**

A necropsia efetuada após 15 dias do início dos testes não mostrou alterações macroscópicas nos rins e fígado dos animais tratados com extrato aquosos de folhas frescas e secas, na concentração de 200 µg kg<sup>-1</sup> animal



**Tabela 1.** Peso médio inicial dos ratos *Wistar* e após 15 dias de ensaio clínico utilizando controle positivo e negativo e extratos das folhas frescas e secas de *Psychotria carthagenensis*, coletadas em Campo Grande, Mato Grosso do Sul, porcentagem em relação peso inicial e consumo médio diário de água

<b>Grupo ensaio</b>	<b>PI (g)</b>	<b>PF(g)</b>	<b>(% pci)</b>	<b>CMDA (mL)</b>
<b>C+</b>	360	403	12	42
<b>C-</b>	340	386	13	44
<b>FF</b>	370	412	11	36
<b>FS</b>	382	422	10	41

PI=Peso inicial; PF=Peso final; pci=Porcentagem em relação ao consumo inicial; CMDA=Consumo médio diário de água; C+=Controle positivo; C-=Controle negativo; FF=Folhas frescas; FS=Folhas secas.

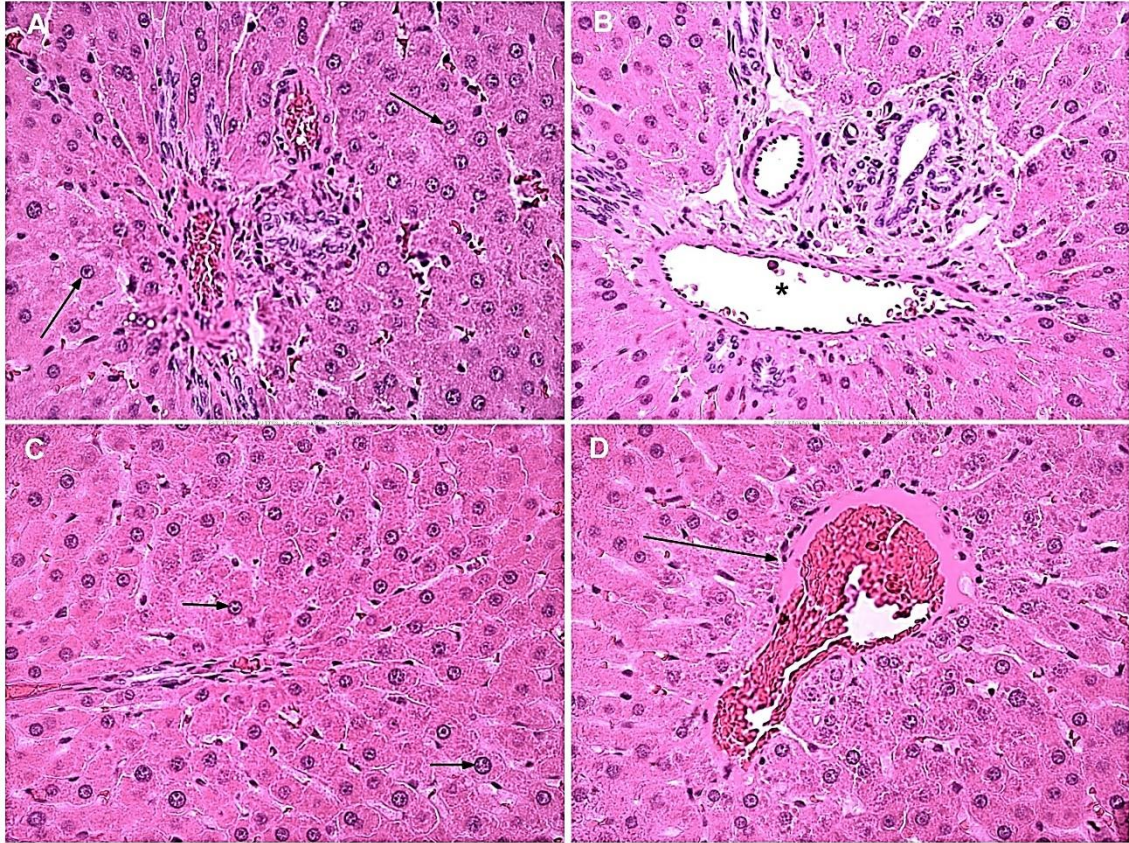
### **Análise histológica do fígado e rim dos ratos Wistar**

A leitura das lâminas dos grupos testados com folhas secas (PS) e folhas fresca (PF), em relação ao C - e C +, considerou-se padrão histológico de normalidade para o fígado: bom estado de conservação, homogeneidade de aspecto, identificação de lóbulos hepáticos íntegros, espaço porta íntegro e veias hepáticas bem definidas; cordões sinusóides presentes íntegros, confluindo para veia centro-lobular. Nos capilares sinusóides, entendeu-se como normal a presença de algumas hemácias. Nas células hepáticas, consideraram-se normais aquelas com um ou mais núcleos íntegros, em geral centralizados e, nucléolos bem evidentes. No citoplasma, foi considerado padrão de normalidade encontrar áreas basófilas e eosinófilas.

Nos animais dos grupos PS e PF, não apresentaram alterações, não havendo alteração morfofuncional, esta pode apresentar se com a elevação desta enzima no qual é demonstrada em 94% dos casos, com trato biliar extra-hepático e cálculos intra-hepáticos (SCHEWARTZ *et al.*, 1991). Logo os achados histológicos corroboraram e confirmaram a normalidade de todos os grupos analisados.

Os achados microscópicos no fígado foram mínimos, apenas uma leve congestão vascular com precipitação proteica na periferia do vaso sanguíneo (Figura 3, representado na imagem D). Os hepatócitos, de uma forma geral, apresentam núcleo ativo, com cromatina frouxa e nucléolo bem evidente em toda

a superfície do órgão. A tríade portal (*Virchow*) também se mostrou preservada (Figura 3, imagem B). Não foram observamos a presença de infiltrado inflamatório, áreas de degeneração e necrose.



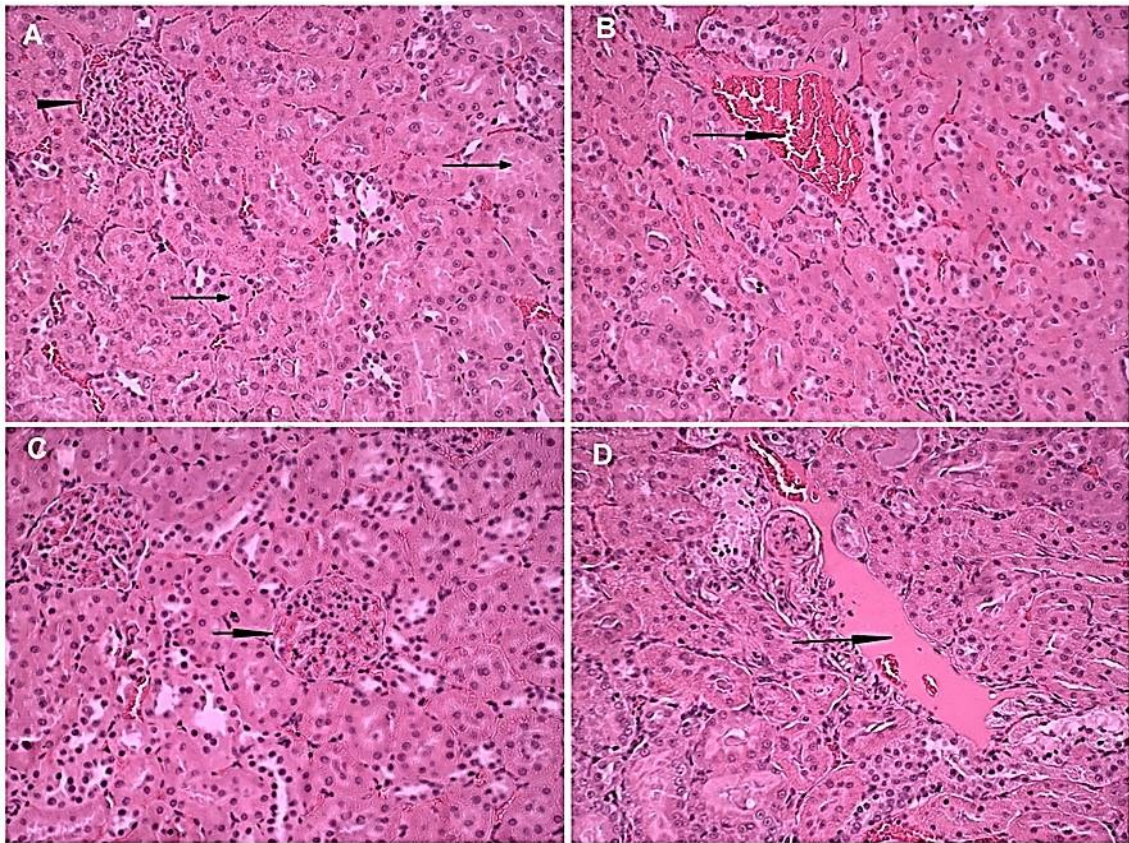
**Figura 3.** Fotomicrografia de luz 01: (A) Secção histológica de fígado de grupo controle negativo (C-) mostrando núcleos dos hepatócitos com morfologia habitual (setas). (B) Secção histológica de fígado de grupo controle positivo (C+) mostrando tríade postal (*Virchow*) com padrão habitual e vênula hepática (asterisco). (C) Secções histológicas de fígado de grupo folhas frescas, *P. carthagenensis*, exibindo núcleos dos hepatócitos com morfologia habitual (setas). (D) Secção histológica de fígado de grupo folhas secas, *P. carthagenensis* exibindo congestão vascular e precipitação proteica na periferia (seta). Coloração de Hematoxilina e Eosina. Aumento de 40x.

Nos rins, a normalidade obedeceu aos quesitos: bem conservados, apresentando corpúsculos renais (glomérulos) e túbulos contorcidos proximais e distais íntegros. Os glomérulos são formados por capilares sanguíneos, células endoteliais e mesangiais sem alterações histológicas. A cápsula de Bowman

apresenta-se íntegra, revestido por epitélio simples pavimentoso. Os túbulos renais apresentam revestimento de células cúbicas ou poliédricas, apresentando citoplasma eosinófilo e núcleo arredondado. Na região medular, analisaram-se as alças de Henle junto aos capilares e túbulos coletores, estes com citoplasma bem delimitado e núcleo esférico, conferindo aspecto habitual para estas estruturas. Morais (2014) verificou alterações histopatológica hepáticas e renais nos animais tratados durante 15 dias com chá de *ayahuasca* nas doses de 1x, 2x e 8x a dose utilizada em rituais religiosos (0,3 mg kg<sup>-1</sup>, DMT (Dimetilriptamina), 3.3 mg kg<sup>-1</sup>, harmina e 0,26 mg de harmalina), estas alterações foram consideradas de grau leve. Alterações das enzimas hepáticas e renais dos animais tratados com chá de *ayahuasca* cronicamente, demonstraram haver algum grau de comprometimento da função hepática (SANTOS *et al.*, 2013). Estas alterações hepáticas podem estar associadas a metabolização hepática do DMT, que por via oral sofre degradação pela MAO (Monoaminoxidase) presente no fígado (BUCKHOLTZ e BOGGAN,1977).

Os dados microscópicos renais nos grupos estudados, de maneira geral, indicaram perda do espaço da cápsula de Bowman (Figura 4, imagens A e C), tumefação celular com diminuição da luz tubular (Figura 4, imagem A), congestão vascular (Figura 4, imagem B) e, precipitação proteica no interior de alguns vasos sanguíneos (Figura 4, imagem D). Não foram observados a presença de infiltrado inflamatório, áreas de calcificação e necrose nas amostras analisadas.

Os achados microscópicos de todos os animais dos grupos estudados no fígado foram mínimos, onde observamos apenas uma leve congestão vascular com precipitação proteica na periferia do vaso sanguíneo (representado na imagem D). Os hepatócitos de uma forma geral apresentam núcleo ativo, com cromatina frouxa e nucléolo bem evidente em toda a superfície do órgão analisado. A tríade portal (*Virchow*) também se mostra preservada (imagem B). Não observamos a presença de infiltrado inflamatório, áreas de degeneração e necrose nas amostras analisadas.



**Figura 4.** Fotomicrografia de luz 02: (A) Secção histológica de rim do grupo controle negativo (C -) mostrando diminuição do espaço da cápsula de Bowman (cabeça de seta) e túbulos renais com estreitamento da luz (setas). (B) Secção histológica de rim de grupo controle positivo (C +) mostrando congestão vascular (seta). (C) Secções histológicas de rim de grupo folhas frescas exibindo diminuição do espaço da cápsula de Bowman (seta). (D) Secção histológica de rim de grupo folhas secas exibindo precipitação proteica na periferia (seta). Coloração de Hematoxilina e Eosina. Aumento de 20x.

#### **Análises Bioquímicas ALT e AST**

Os níveis plasmáticos das enzimas AST e ALT não são órgão-específicas, mas são alterados mais frequentemente em lesões hepáticas. As enzimas podem sofrer alteração por fatores inflamatórios em outros órgãos, sendo significativas de origem hepática. Analisando os resultados apresentados na tabela 2 foi observado que os níveis de AST e ALT dos animais tratados com extrato ExtH<sub>2</sub>O de *P. carthagenensis* na concentração de 200 µg kg<sup>-1</sup> animal apresentam níveis aumentados com relação aos grupos controle.

**Tabela 2.** Resultados bioquímicos dos pré-testes realizados durante 15 dias: ALT e AST, das folhas de *Psychotria carthagenensis*, na concentração de 200  $\mu\text{g kg}^{-1}$ , coletadas em Campo Grande – MS

Data	Sexo	[Grupo]	ALT	AST	Padrão U/l*
25/07/18	M	C-	40	82	23-48
25/07/18	M	C+	55	85	23-48
25/07/18	M	PS	66	115	23-48
25/07/18	M	PF	64	100	23-48

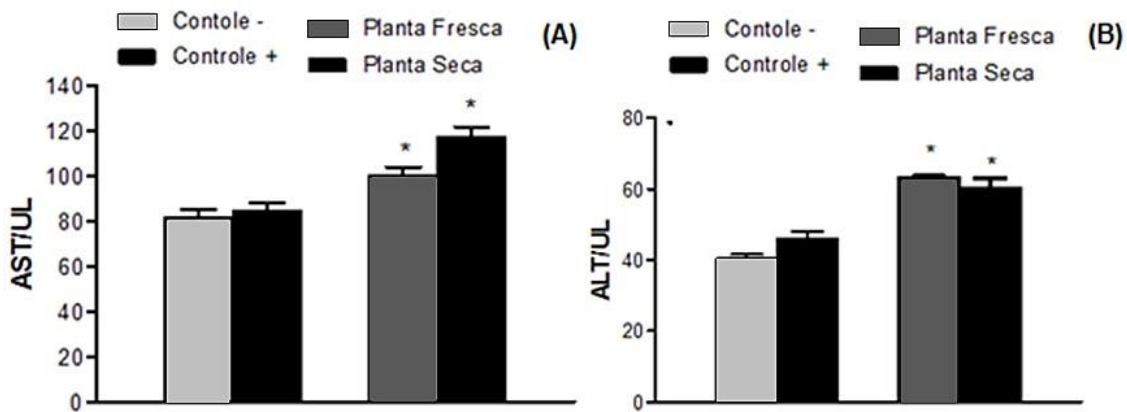
\*Padrão U/l utilizado de acordo com o Canadian Council Animal Care (CCAC).

As aminotransferases (ALT e AST) são enzimas essenciais envolvidas no metabolismo central de todos os organismos. Sua alteração e presença nos tecidos e sangue irá alterar a homeostasia corporal. O objetivo das reações de transaminação é coletar os grupos amino de muitos aminoácidos diferentes, na forma de apenas um, o L-glutamato, que funciona como doador de grupos amino para as vias biossintéticas ou para as vias de excreção que levam à eliminação dos produtos nitrogenados (LEHNINGER, 2006).

A relação entre estes marcadores fornece uma perspectiva clínica sobre várias doenças hepáticas e sistêmicas. Isto ocorre pela presença de AST em tecido hepático, cardíaco, renal e no músculo esquelético; e, pela alta predominância de ALT no hepatócito. Sendo assim, o aumento de ambas denota maior especificidade para dano hepático (EDOARDO, 2005). Nos hepatócitos, a AST é encontrada no citoplasma (40%) e na mitocôndria (60%), podendo qualquer lesão tissular ou doença que afete o parênquima hepático resultar em liberação de maior quantidade dessa enzima para a corrente sanguínea, com consequente aumento dos níveis séricos de AST (MOTTA, 2009).

Como demonstrado na figura 5 (A, B) foi observado aumento significativo dos níveis plasmáticos de AST e do ALT no grupo PS e PF que recebeu o tratamento, demonstrando bioquimicamente os impactos hepatocelulares. Desta maneira, é possível inferir que o tratamento pode gerar danos hepáticos.

Os dados das análises bioquímicas demonstraram maior concentração nos níveis da (AST) ( $\text{mU mL}^{-1}$ ) no grupo PS em relação aos outros grupos (PS =  $115,00 \pm 32,10 > \text{C-} = 82,05$ ; PF =  $100,08 \pm 18,03 > \text{C-} = 82,05$ ).



**Figura 5.** Avaliação dos efeitos do extrato aquoso da planta seca e fresca de *P. carthagenensis*, controle positivo (clonazepam) e como controle negativo (água) nos níveis de AST (A) e ALT (B). A concentração sérica de AST (A) e ALT (B) foi avaliada nos grupos controle e animais que receberam o extrato de *P. carthagenensis* com ensaios utilizando kits Gold Analisa. Os resultados foram expressos como média  $\pm$  EPM de mg/dl de plasma (n=5). \* $p < 0,05$  quando comparado ao grupo controle (ANOVA seguido Newman Keuls).

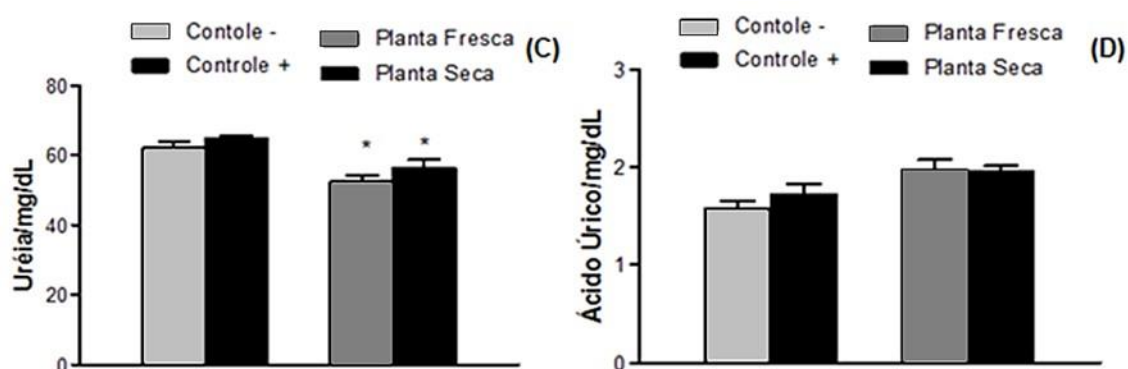
### **Análises Bioquímicas Ureia e Ácido Úrico**

O nível de ureia no plasma é afetado, entre outros fatores, pela função renal. Apesar de sofrer variações devido a outros fatores, como por exemplo, o estado de hidratação, este marcador ainda serve como um bom índice preditivo da insuficiência renal sintomática (MOTTA, 2009).

Os resultados obtidos demonstraram redução significativa dos níveis de ureia no grupo que recebeu o tratamento com a folha seca em 58% e 55% para folha fresca (Figura 6-A). Desta maneira, o tratamento não afetou a função renal dos animais tratados. Níveis estes que foram comprovados e comparados com os níveis de referência mínima de ureia que é até 51mL dL<sup>-1</sup>, em um animal saudável. No entanto, tem que se levar em consideração os níveis de ureia abaixo da referência mínima, estes resultados corroboram com o indício de dano hepático grave; entretanto, esse parâmetro é mais usado em associação com a dosagem de creatinina, como prova de função renal (MELO-DINIZ, 2000).

O ácido úrico é o produto final do metabolismo das purinas. A hiperuricemia é definida por uma concentração sérica de ácido úrico igual ou superior a 6,8 mg dL<sup>-1</sup>. É causada por uma produção excessiva de ácido úrico, uma diminuição da sua excreção ou por uma combinação de ambos (AKKINENI

et al., 2014). Os níveis plasmáticos do ácido úrico não demonstraram alterações significativas dos níveis deste substrato nos grupos estudados (Figura 6). Desta maneira, o tratamento não afetou a excreção de ácido úrico e conseqüentemente, a função renal dos animais tratados. Dados consideráveis, pois, foi e identificado níveis mais altos de ureia nos animais após tratamento crônico com *ayahuasca* diluída a 50% (dose padrão de 100ml contem 24mg de DMT, Harmina, 1,37mg, Harmalina, 0,62mg, Tetra Hidro Harmina, 0,35mg) sugerindo haver um indicativo de dano renal (FIGUEROA, 2012).



**Figura 6.** Avaliação dos efeitos do extrato aquoso da folha seca e fresca de *P. carthagenensis*, controle positivo (clonazepam) e como controle negativo (água) nos níveis de ureia (C) e ácido úrico (D). A concentração sérica da ureia e de ácido úrico foram avaliadas nos grupos controle e animais que receberam o extrato de *P. carthagenensis* com ensaios utilizando kits Gold Analisa. Os resultados foram expressos como média  $\pm$  EPM de mg/dl de plasma (n=5). \* $p < 0,05$  quando comparado ao grupo controle (ANOVA seguido Newman Keuls).

### Dosagem de acetilcolinesterase

Com base nos resultados (Tabela 3) pode se considerar que o ensaio realizado com o extrato do grupo planta fresca ( $5,572 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) apresentou menor quantidade da concentração enzimática da acetilcolinesterase em relação ao controle negativo ( $6,900 \mu\text{g mL}^{-1}$ ). Apresentando resultado semelhante ao controle positivo. O grupo que utilizou o extrato aquoso das folhas secas apresentou uma maior concentração enzimática de AChE porém menor concentração em relação ao controle negativo.

**Tabela 3.** Resultados da concentração enzimática de acetilcolina no plasma sanguíneo dos ratos *Wistar* no ensaio clínico, durante 15 dias, com o extrato aquoso de *P. carthagenensis* na concentração de 200  $\mu\text{g kg}^{-1}$  animal

<b>Resultados da [Enzimática]</b>					
	Padrão	C +	C -	PF	PS
[Enzimas] ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	5,649	5,767	6,900	5,572	6,096
DesvPad CV %	0,1331	0,0841	0,198	0,114	0,064
	25,27%	19,67%	38,176	27,25	14,03
	a	a	c	a	b

DesvPad = desvio padrão; CV% = Coeficiente de variação; a = padrão de referência interna.

A acetilcolina (ACh) é um neurotransmissor bastante difundido por todo o sistema nervoso. No sistema nervoso periférico, ela é liberada por todos os neurônios motores do sistema nervoso somático e, no sistema nervoso autônomo, por todos os neurônios pré-ganglionares, além dos pós-ganglionares do sistema nervoso parassimpático e dos pós-ganglionares que inervam as glândulas sudoríparas, pertencentes ao sistema nervoso simpático.

Já no sistema nervoso central, a ACh é amplamente distribuída por todo o encefalo, particularmente nas regiões do córtex cerebral, pró-encéfalo basal, hipocampo, diencéfalo, ponte e, em menor quantidade, no cerebelo. Os neurônios colinérgicos estão relacionados com importantes funções como o alerta, o controle motor, o aprendizado e a memória, e todas essas ações exercidas pela ACh estão prejudicadas quando há deficiências na secreção desse neurotransmissor (VINUTHA *et al.*, 2007).

A acetilcolinesterase (AChE) é uma enzima cuja ação é crucial na propagação do impulso nervoso. A AChE inativa a ação do neurotransmissor acetilcolina hidrolisando-o em acetato e colina. A acetilcolina é sintetizada e armazenada em vesículas no neurônio pré-sináptico, sendo que a liberação depende de alterações iônica e elétrica da membrana plasmática. A despolarização da membrana plasmática do neurônio pré-sináptico promove o influxo de  $\text{Ca}^{2+}$  seguida de fusão de vesículas sinápticas com a membrana



plasmática. Essa fusão promove a liberação de acetilcolina na fenda sináptica e difusão até o receptor localizado na membrana plasmática do neurônio pós-sináptico. Antes que ocorra nova liberação de acetilcolina, a molécula previamente liberada deve ser hidrolisada pela AChE.

Os resultados deste trabalho demonstraram que a *P. carthagenensis* inibe a AChE, corroborando com os achados de OH *et al.* (2004), que relata que inibidores da AChE propiciam uma melhora em pacientes com Alzheimer. Na doença de Alzheimer (DA), complexa e progressiva doença neurodegenerativa multifatorial, que atinge primordialmente a população com mais de 65 anos de idade (ADAMS *et al.*, 2007) são observados déficits cognitivos e funcionais. Evidências demonstram que esses déficits se relacionam com a degeneração do sistema colinérgico, devido principalmente a diminuição dos níveis plasmáticos de acetilcolina (VINUTHA *et al.*, 2007). Os inibidores da AChE aumentam os níveis de acetilcolina presentes nas sinapses entre neurônios colinérgicos (JUNG e PARK, 2007).

Um número reduzido de fármacos é utilizado no tratamento da DA (LIN *et al.*, 2008), entre eles, os medicamentos sintéticos tacrina, donepezila e rivastigmina e princípios extraídos de plantas como galantamina (4aS,6R,8aS) - 5,6,9,10,11,12- hexahydro- 3-methoxy- 11-methyl- 4aH- [1]benzofuro[3a,3,2-ef] [2] benzazepin- 6-ol. A rivastigmina (Exelon®) é obtida a partir do alcaloide fisioestigmina, também inibidor da AChE (MUKHERJEE *et al.*, 2007).

A galantamina pode ser isolada de diversas espécies dos gêneros *Galanthus* e *Narcissus* da família *Amaryllidaceae*, mas atualmente produzido sinteticamente, é considerada a mais efetiva no tratamento da doença de Alzheimer. Esses medicamentos apresentam diversos efeitos colaterais tais como hepatotoxicidade, problemas gastrintestinais e relacionados com a biodisponibilidade deste fármaco, como a tacrina, com curta meia vida (MUREBWAYIREA *et al.*, 2009). Além disso, a eficiência desses medicamentos é somente sobre a fase leve e moderada da doença, que representa um período curto.

## **Conclusões**

Como base nos resultados pode-se apontar que:

- O extrato aquoso de *Psychotria carthagenensis* possui como constituintes majoritários os compostos fenólicos, antraquinonas e triterpenos;
- O extrato aquoso das folhas frescas e secas não possui hepatotoxicidade e nefrotoxicidade em ratos;
- As análises bioquímicas demonstraram leve alteração nas enzimas hepáticas.
- O extrato aquoso das folhas frescas e secas in vivo foi considerado inibidor da enzima AChE in vivo.

### **Agradecimentos**

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 e, da Universidade Anhanguera-Uniderp, através do pagamento de bolsa de estudo.

### **Referências Bibliográficas**

ACHENBACH, H.; LOTTES, M.; WAIBEL, R.; KARIKAS, G.A.; CORREA, M.D.; GUPTA, M.P. Alkaloids and other compounds from *Psychotria correae*. **Phytochemistry**, Oxford, v. 38, n. 6 p. 1537–1545, 1995.

ADAMS, M.; GMUEDNER, F.; HAMBURGER, M. Plants traditionally used in age related brain disorders - A survey of ethnobotanical literature. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v.113, p.363-81, 2007.

AKKINENI R.; TAPP S.; TOSTESON A. N.; LEE A.; MILLER K. L.; CHOI, H. K. Treatment of asymptomatic hyperuricemia and prevention of vascular disease: a decision analytic approach. **Journal of Rheumatology**, Toronto, v. 41, n.4, p. 739-48, 2014.

ALVES, C. Q.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. D. L.; BAHIA, M. V.; AGUIAR, R. M. Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Química Nova**, São Paulo, v.33, n. 10, p. 2202-2210, 2010.

AMENTA, F.; TAYEBATI, S. K. Pathways of Acetylcholine Synthesis, Transport and Release as Targets for Treatment of Adult Onset Cognitive Dysfunction. **Current Medicinal Chemistry**, Sharjah, v. 15, p. 488-498, 2008.

AMORIM, A.; PEREIRA N. A. Toxicidade de extratos de *Cestrum axillare*. Vell em Camundongos. **Revista Brasileira Farmácia**, Rio Janeiro, n. 73, v. 3, p. 50-52, 1992.

ANDERSON, B. T. Ayahuasca as antidepressant? Psychedelics and styles of reasoning in psychiatry. **Anthropology of Consciousness**, Airlington, v. 23, n. 1, p. 44-59, 2012.

ASSIS, G. L.; RODRIGUES, J. A. Uma bebida, muitas visões: apontamentos sociológicos sobre a II Conferência Mundial da Ayahuasca. **Horizontes Antropológicos**, Porto Alegre, v. 51, [s.n.], p. 135-165, 2018.

ATHAYDE, M. L.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G. Saponinas. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2017, p. 285-303.

BARCELLOS, J. P. A. **Potencialidade do uso de sistemas nanoestruturados contendo ácido ursólico para a otimização da terapia da doença de Chagas**. 2014. 64f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) — Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto.

BERGAMIN, L. S. **Envolvimento do sistema purinérgico, da enzima ciclooxigenase 2 e sistema imune no desenvolvimento e progressão de glioblastoma multiforme e novas alternativas terapêuticas para esse tipo tumoral**. 2016. 230f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas: Bioquímica) — Instituto de Ciências Básicas da Saúde - Departamento de Bioquímica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

BERGER, A.; KOSTYAN, M. K.; KLOSE, S. I.; GASTEGGER, M.; LORBEER, E.; BRECKER, L.; SCHINNERL, J. Loganin and secologanin derived tryptamine-iridoid alkaloids from *Palicourea crocea* and *Palicourea padifolia* (Rubiaceae). **Phytochemistry**, London, v. 116, [s. n.], p. 162-169, 2015.

BERTUCCI, A.; HARETCHE, F.; OLIVARO, C.; VÁZQUEZ, A. Prospección química del bosque de galería del río Uruguay. **Revista Brasileira Farmacognosia**, Sao Paulo, v. 18, n. 1, p. 21-25. 2008.

BOLZANI, V. S.; YOUNG, M. C. M.; FURLAN, M.; CAVALHEIRO, A. J.; ARAÚJO, A. R.; SILVA, D. H. S.; LOPES, M. N. **Secondary metabolites from Brazilian Rubiaceae plant species: Chemotaxonomical and biological significance**. In: Recent Research Developments in Phytochemistry, 1st ed., S. G. Pandaly Ed., Research Singpost: Trivandum, New Delhi, v. 5, p. 19-31, 2001.

BOTH, F. L. **Avaliação do perfil psicofarmacológico de psicolatina isolada de *Psychotria umbellata* (Rubiaceae)**. 2005. 178f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

BRASIL. Ministério da Ciência e Tecnologia, Inovações e Comunicação. **Resolução Normativa CONCEA - Resolução n. 37, 15 de fevereiro de 2018**. Baixa a Diretriz da Prática de Eutanásia do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – CONCEA. 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução n. 90, 16 de março de 2004**. Determina a publicação do guia para a realização de estudos de toxicidade pré-clínica de fitoterápicos. Brasília, 2004. [online]. Disponível em: <<http://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?data=18/03/2004&journal=1&pagina=34&totalArquivos=100>>. Acesso em: 29 abr. 2017.

BUCKHOLTZ, N. S.; BOGGAN, W. O. Monoamine oxidase inhibition in brain and liver produced by  $\beta$ -carbolines: Structure-Activity relationships and substrate

specificity. **Biochemical Pharmacology**, Oxford, v. 26, n. 21, p. 1991-1996. 1977

CARDOSO, E. L.; CRISPIM, S. M. A.; RODRIGUES, C. A. G.; BARIONI JUNIOR, W. Composição e dinâmica da biomassa aérea após a queima em savana gramíneo-lenhosa no Pantanal. **Pesquisas Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n.11, p. 2309-2316, 2000.

CRISPIM, S. M. A.; SANTOS, S. A.; CHALITA, L. V. A. S.; FERNANDES, A. H. B. M.; SILVA, M. P. Variação sazonal na frequência e composição botânica em área de máxima inundação, Pantanal-MS, Brasil. **Archivos Zootecnia**, Córdoba, v. 51, p.149-160, 2002.

ČOLOVIĆ, M. B.; KRSTIĆ, D. Z.; LAZAREVIĆ-PAŠTI, T. D; BONDŽIĆ, A. M.; VASIĆ, V. M. Acetylcholinesterase Inhibitors: Pharmacology and Toxicology. **Current Neuropharmacology**, Sharjah, v. 11, p. 315-335, 2013.

COTINGUIBA, G. G.; SILVA, J. R. N.; SÁ AZEVEDO, R. R.; ROCHA, T. J. M.; DOS SANTOS, A. F. Método de avaliação da defesa antioxidante: uma revisão de literatura. **Journal of Health Sciences**, El Monte, v. 15, n. 3, p. 231-237, 2013.

DE SOUZA, P. A. Alcaloides e o chá de ayahuasca: uma correlação dos " estados alterados da consciência" induzido por alucinógenos. **Revista Brasileira Plantas Medicinai**s, Botucatu, v. 13, n. 3, p. 349-358, 2011.

DEVDOSS, S.; MURUGAIYAN, I.; RAJAN, M.; THANGARAJ, P. Evaluation of phytochemical, antioxidant and antimicrobial properties of ethnomedicinal plant *Psychotria nilgiriensis* Deb. & Gang. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, Annamalai Nagar, v. 5, n. 3, p. 417 e 422, 2013.

DUSSMAN, L. T.; JORGE, T. C. M.; SOUZA, M. C.; EBERLIN, M. N.; MEURER, E. C.; BOCCA, C. C.; BASSO, E. A.; SARRAGIOTTO, M. H. Monoterpene Indole

Alkaloids from *Palicourea crocea*. **Journal of Natural Products**, Cincinnati, v. 67, [s.n.], p. 1886-1888, 2004.

EDOARDO G.G., ROBERTO T., VINCENZO S. Liver enzyme alteration: a guide for clinicians. **Canadian Medical Association Journal**, Ottawa, v. 172, n. 3, p. 367-379, 2005.

ELISABETSKY, E.; AMADOR, T. A.; ALBUQUERQUE, R. R.; NUNES, D. S.; CARVALHO, A. C. Analgesic activity of *Psychotria colorata* (Willd. ex R. & S.) Muell. Arg. alkaloids. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v. 48, n. 2, p. 77-83, 1995.

FARIA, E. O. **Estudo Fitoquímico das folhas da *Psychotria prunifolia* (Kunth) Steyerl (Rubiaceae)**. 2009. 126f. Dissertação (Mestrado em Química) — Instituto de Química, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

FARIAS, F. M. ***Psychotria myriantha* Müll. Arg. (Rubiaceae): caracterização dos alcaloides e avaliação da atividade antiqumiotóxica e sobre o sistema nervoso central**. Porto Alegre, UFRGS. 2006. 191f. Tese (Doutorado Ciências Farmacêuticas) — Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

FIGUEROA, A. R. M. **Avaliação dos efeitos neurotóxicos do chá ayahuasca**. 2012. 119f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

FONTOURA, F. M.; MATIAS, R.; LUDWIG, J.; OLIVEIRA, A. K. M.; BONO, J. A. M.; MARTINS, P. D. F. R. B.; GUEDES, N. M. R. Seasonal effects and antifungal activity from bark chemical constituents of *Sterculia apetala* (Malvaceae) at Pantanal of Miranda, Mato Grosso do Sul, Brazil. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 45, n. 3, p. 283–292, 2015.

FORMAGIO, A. S. N.; VOLOBUFF, C. R. F.; SANTIAGO, M.; CARDOSO, C. A. L.; VIEIRA, M. C.; PEREIRA, Z. V. Evaluation of antioxidant activity, total

flavonoids, tannins and phenolic compounds in *Psychotria* leaf extracts. **Antioxidants**, Basel, v. 3, n. 4, p. 745-757, 2014.

FRAGOSO, V. **Alcalóides de Psychotria: fotorregulação e propriedades antioxidantes e antimutagênicos**. 2007. 124f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

FRECSKA, E.; BOKOR, P.; WINKELMAN, M. The therapeutic potentials of ayahuasca: possible effects against various diseases of civilization. **Frontier in Pharmacology**, London, v. 1, n. 7, p. 35, 2016.

GAZDA, V. E. **Abordagem química e estudo da atividade biológica das raízes de *Chiococca alba* (L.) Hitchc. (Rubiaceae)**. 2004. 141f. Rio de Janeiro, Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

JUNG, M.; PARK, M. Acetylcholinesterase inhibition by flavonoids from *Agrimonia pilosa*. **Molecules**, Basel, v. 3, n. 12, p. 2130-2139, 2007.

KERBER, V. A.; GREGIANINI, T. S.; PARANHOS, J. T.; SCHWAMBACH, J.; FARIAS, F.; FETT, J. P.; FETT-NETO, A. G.; ZUANAZZI, J. A.; QUIRION, J. C.; ELIZABETSKY, E.; HENRIQUES, A. T. Brachycerine, a novel monoterpene indole alkaloid from *Psychotria brachyceras*. **Journal Natural. Products**, Cincinnati, v. 64, n. 5, p. 677–679, 2001.

KLEIN-JUNIOR, L. C.; VIAENE, J.; TUENTER, E.; SALTON, J.; GASPER, A. L.; APERS, S.; ANDRIES, J. P.; PIETERS, L.; HENRIQUES, A. T.; VANDER HEYDEN, Y. The use of chemometrics to study multifunctional indole alkaloids from *Psychotria nemorosa* (*Palicourea comb.nov.*). Part II: indication of peaks related to the inhibition of butyrylcholinesterase and monoamine oxidase - **Journal of Chromatography A**, New York, v. 1463, [s.n.], p. 71–80. 2016.

KOCH, A.; SILVA, P.; SILVA, C. A. Biologia reprodutiva de *Psychotria carthagenensis* (Rubiaceae), espécie distílica de fragmento florestal de mata ciliar, Centro-Oeste do Brasil. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 61, n. 3, 2010.

KREIS, W.; MUNKERT, J.; PÁDUA, R. M. Biossíntese de metabólitos primários e secundários. In: SIMÕES, C.M.O. **Farmacognosia: do Produto Natural ao Medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2017. p. 147-166.

LEAL, M. B.; ELISABETSKY, E. Absence of alkaloids in *Psychotria carthagenensis* Jacq. (Rubiaceae). **Journal of ethnopharmacology**, Limerick, v. 54, n. 1, p. 37-40, 1996.

LEHNINGER, A. L. **Princípios de Bioquímica**. São Paulo: Sarvier, 2006. 356p.

LIN, H. Q.; HO, M. T.; LAU, L. S.; WONG, K. K.; SHAW, P. C.; WAN, D. C. Anti-acetylcholinesterase activities of traditional Chinese medicine for treating Alzheimer's disease. **Chemico-Biological Interactions**, Limerick, v. 25, n. 1-3, p. 352-354, 2008.

LAPCHIK, V. B. V.; MATTARAIA, V. G. M.; KO, G. M. **Cuidados e Manejo de Animais de Laboratório**. São Paulo: Ed. Atheneu, 2010. P. 456-458.

MATOS, F. J. D. A. **Introdução à fitoquímica experimental**. Fortaleza: Edições UFC, 2009. 150p.

MELO-DINIZ, M. F. F. **Estudos de toxicidade pré-clínica de extratos de folhas de *Cissampelos sympodialis* Eich.** 2000. 147f. Joao Pessoa, Tese, (Doutorado em Produtos Naturais), Universidade Federal da Paraíba.

MCKENNA, D. J.; TOWERS, G. N.; ABBOTT, F. Monoamine oxidase inhibitors in South American hallucinogenic plants: tryptamine and beta-carboline constituents of ayahuasca. **Journal Ethnopharmacology**, Limerick, v. 10, n. 2, p. 195–223, 1984.



MIMAKI, Y.; WATANABE, K.; ANDO, Y.; SAKUMA, C.; SASHIDA, Y.; FURUYA, S.; SAKAGAMI, H. Flavonol glycosides and steroidal saponins from the Leaves of *Cestrum nocturnum* and Their Cytotoxicity. **Journal Natural Products**, Cincinnati, v. 64, n. 1, p. 17-22, 2001.

MORES, J. A. **Toxicidade aguda e crônica do chá ayahuasca (*Banisteriopsis caapi* e *Psychotria viridis*), por análise histológica em ratos *Wistar***. 2014. 133f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) — Universidade de Brasília, Brasília.

MOTTA, V. T. **Bioquímica Clínica para o Laboratório – Princípios e Interpretações**. 5ed. Curitiba: Medbook, 2009. 400p.

MUKHERJEE, P. K.; KUMAR, V., MAL; M., E HOUGHTON, P. J. Acetylcholinesterase inhibitors from plants. **Phytomedicine**, Stuttgart, v. 14, n. 4, p. 289-300, 2007.

MUREBWAYIREA, S.; INGKANINAN, K.; CHANGWIJIT, K.; FRÉDÉRICH, M.; DUEZ, P. *Triclisia sacleuxii* (Pierre) Diels (Menispermaceae), a potential source of acetylcholinesterase inhibitors. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, London, v. 61, n. 1, p. 103-107, 2009.

NASCIMENTO, N. C.; FRAGOSO, V.; MOURA, D. J.; SILVA, A. C. R.; FETTNETO, A. G.; SAFFI, J. Antioxidant and antimutagenic effects of the crude foliar extract and the alkaloid brachycerine of *Psychotria brachyceras*. **Environmental and molecular mutagenesis**, New York, v. 48, n. 9, p. 728-734, 2007.

NASCIMENTO, R. R. G.; MONTEIRO, J. A.; PIMENTA, A. T. A.; TREVISAN, M. T. S.; BRAZ-FILHO, R.; SOUZA, E. B.; LIMA, M. A. S. New flavonoids from *Margaritopsis Carrascoana* with antioxidant activity. **Química Nova**, São Paulo, v. 38, n. 1, p. 60-65, 2015.

OH, M. H.; HOUGHTON, P. J.; WHANG, W. K.; CHO, J. H. Screening of Korean herbal medicines used to improve cognitive function for anti-cholinesterase activity. **Phytomedicine**, Stuttgart, v. 11, n. 6, p. 544-548, 2004.

PASSOS, C. S.; KLEIN-JUNIOR, L. C.; ANDRADE, J. M. M.; MATTÉ, C.; HENRIQUES, A. T. The catechol-O-methyltransferase inhibitory potential of Z-vallesiachotamine by in silico and in vitro approaches. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v. 25, n. 4, p. 382–386. 2015.

PASSOS, C. S.; SIMÕES-PIRES, C. A.; NURISSO, A.; SOLDI, T. C.; KATO, L.; OLIVEIRA, C. M.; FARIA, E. O.; MARCOURT, L.; GOTTFRIED, C.; CARRUPT, P. A.; HENRIQUES, A. T. Indole alkaloids of *Psychotria* as multifunctional cholinesterases and monoamine oxidases inhibitors. **Phytochemistry**, London, v. 86, [s.n], p. 8–20. 2013.

PIMENTA, A. T. A.; BRAZ-FILHO, R.; DELPRETE, P. G.; SOUZA, E. B.; SILVEIRA, E. R.; LIMA, M. A. S. Structure elucidation and NMR assignment soft woun usual monoterpene indole alkaloids from *Psychotria stachyoides*. **Magnetic Resonance in Chemistry**, Sussex, v. 48, n. 9, p. 734–737, 2010.

PORTO, D. D. **Papel do alcaloide braquicerina na resposta ao estresse por radiação ultravioleta e dano mecânico em *Psychotria brachyceras* Mull Arg.** 2009. 138f. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; FLOWER, R. J. HENDERSEN, G. **Pharmacology**. 7ed. Churchill Livingstone, Elsevier, 2012. 778 p.

RATES S. M. K.; BRIDI R.; BRAGA F. C. E.; SIMÕES C. M. O. Heterosídeos cardioativos. In: SIMÕES C. M. O.; SCHENKEL E. P.; MELLO J. C. P.; MENTZ LA e PETROVICK PR. (Orgs.). **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2017. p. 271-284.

ROBBRECHT, E.; MANEN, J. F. The major evolutionary lineages of the coffee family (Rubiaceae, angiosperms). Combined analysis (nDNA and cpDNA) to infer the position of *Coptosapelta* and *Luculia*, and supertree construction based on rbcL, rps16, trnL- trnF and atpB-rbcL data. A new classification in two subfamilies, Cinchonoideae and Rubioideae. **Systematics and Geography Plants**, Meise, v. 76, n.1, p. 85–146, 2006.

ROTH, A.; KUBALLA, B.; BOUNTHANH, C.; CABALION, P.; SEVENET, T.; BECK, J. P.; ANTON, R. Cytotoxic activity of polyindoline alkaloids of *Psychotria forsteriana* (Rubiaceae). **Planta Médica**, Stuttgart, v. 52, n. 6, p. 450–453, 1986.

SANTOS, A. C.; MOSTARDEIRO, C. P. Padronização De Metodologia Analítica Para Avaliação Da Colinesterase Plasmática. **Revista Contexto e Saúde**, Ijuí, v. 7, n. 14, p. 22-23, 2008.

SANTOS, A. C.; AZEVEDO, B. R. D. M. S.; PEREIRA, N. K.; IRULEGUI, R. D. S. C.; BARACHO, N, C, D, V. Efeitos cardiovasculares renais e hepáticos produzidos pela administração crônica de ayahuasca em ratos hipertensos. **Revista Ciências em Saúde**, Itajubá, v. 3, n. 4, p. 21-38, 2013.

SARRIS, J.; MCINTYRE, E.; CAMFIELD, D. A. Plant-based medicines for anxiety disorders, part 2: a review of clinical studies with supporting preclinical evidence. **CNS drugs**, Branford v. 27, n. 4, p. 301-319, 2013.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5ed. Editora UFRGS/UFSC, 2003. p. 371-657.

SOARES, M. R. A.; CARVALHO, C. C.; SILVA, L. A.; LIMA, M. S. C. S.; BARRAL, A. M. P.; REBÊLO, J. M. M.; E PEREIRA, S. R. F. Molecular analysis of natural infection of *Lutzomyia longipalpis* in an endemic area for visceral leishmaniasis in Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 26, n.12, p.2409-2413, 2010.

SOBOCINSKI, P. Z.; MCDEVITT, R. P. A Multiple Sampling Device for the autoanalyzer. **Clinical Chemistry**, Washington, v. 18, n. 5, p. 487, 1972.

SOUSA, M. C.; MONTEIRO, R. Levantamento florístico em remanescente de floresta ripária no alto rio Paraná: Mata do Araldo, Porto Rico, Paraná, Brasil. **Acta Scientiarum - Biological Sciences**, Maringá, v. 27, n.4, p. 405-414, 2005.

PEIXOTO SOBRINHO, T. J. S.; SILVA, C. H. T. P.; NASCIMENTO, J. E.; MONTEIRO J. M.; ALBUQUERQUEII, U. P.; CAVALCANTI, D. A. E. L. Validação de metodologia espectrofotométrica para quantificação dos flavonóides de *Bauhinia cheilantha* (Bongard) Steudel. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 44, n. 4, p. 683-689, 2008.

SANTOS, L. V.; FETT-NETO, A. G.; KERBER, V. A.; ELISABETSKY, E.; QUIRION, J. C.; HENRIQUES, A. T. Indole monoterpene alkaloids from leaves of *Psychotria suterella* Müll. Arg. (Rubiaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, Richmondv, 29, n. 11, p. 1185-1187. 2001.

SUAREZ, J.; SCOTT B. T.; SUAREZ-RAMIREZ, J. A.; CHAVIRA C. V.; DILMANN W. H. Thyroid hormone inhibits ERK in pressure overload- induced hypertrophied mouse hearts through receptor-mediated mechanism. **American Journal of Physiology. Cell Physiology**, Bethesda, v. 299, n. 6, p. 1524-1529, 2010.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918p.

TAYLOR, C.; GOMES, M.; ZAPPI, D. *Psychotria*. In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2015. [online]. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB74043>>. Acesso em: 23 out. 2018.

VALVERDE, J.; TAMAYO, G.; HESSE, M.  $\beta$ -Carboline monoterpene glucosides from *Palicourea adusta*. **Phytochemistry**, Toronto, v. 52, n. 8, p.1485–1489. 1999.

VARGAS-PEREZ, H.; DOBLIN, R. The potential of psychedelics as a preventative and auxiliary therapy for drug abuse. **Current Drug Abuse Reviews**, Sharjah, v. 6, n. 1, p. 1–2, 2013.

VENTURA, A. L. M.; ABREU, P. A.; FREITAS, R. C. C.; SATHLER, P. C.; LOUREIRO, N.; CASTRO, H. C. Sistema colinérgico: revisitando receptores, regulação e relação com a doença de Alzheimer, esquizofrenia, epilepsia e tabagismo. **Revista de Psiquiatria Clínica**, São Paulo, v. 37, n. 2, p. 66-72, 2010.

VINUTHA, B.; PRASHANTH, D.; SALMA, K.; SREEJA, S. L.; PRATITI, D.; PADMAJA, R.; DEEPAK, M. Screening of selected Indian medicinal plants for acetylcholinesterase inhibitory activity. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v. 109, n. 2, p. 359-363, 2007.

ZHANG, C.; ZHANG, D.; CHEN, M.; GUAN, S.; YAO, J.; HE, X.; LEI, L.; ZHONG, Y.; WANG, Z.; YE, W. Antiproliferative triterpenoid saponins from the stem of *Psychotria* sp. **Planta Médica**, New York, v. 79, p. 978–986, 2013.

ZHOU, H.; HE, H. P.; WANG, Y. H.; HAO, X. J. A New Dimeric Alkaloid from the Leaf of *Psychotria calocarpa*. **Helvetica Chimica Acta**, Basel, v. 93, n. 8, p. 1650-1652, 2010.

## 6. Considerações Finais

O estudo apresentou a menor dose estudada, sem apresentar por 15 dias hepato e nefrotoxicidade em *Rattus norvegicus*. Pelas análises realizadas com as folhas da *P. carthagenensis* conclui se que, a fitoquímica detectou os alcaloides de forma significativa (++) . O aumento das enzimas hepáticas na corrente sanguínea sugeriu que novos estudos serão necessários para excluir a hipótese de lesão hepática causadas pela utilização crônica da infusão das folhas de *P. carthagenensis*. Os níveis das enzimas renais não sofreram alterações fisiológicas A *P. carthagenensis* evidenciou importante inibição da enzima acetilcolinesterase sem causar alterações na morfologia dos rins e fígado dos ratos Wistar, podendo ser utilizada em novos e promissores estudos de fármacos a serem utilizados no tratamento de doenças neurodegenerativas.