

Introdução

Os alcalóides indólicos constituem uma classe de metabólitos secundários extensivamente investigados devido a sua importância terapêutica¹. Dentre os gêneros capazes de sintetizar alcalóides indólicos, *Psychotria* (Rubiaceae) destaca-se pela variedade de produtos biologicamente ativos^{2,3}.

Monoamina oxidases (MAOs) são enzimas mitocondriais que catalisam a desaminação oxidativa de amins biogênicas e xenobióticas no cérebro e em tecidos periféricos. MAOs podem ser encontradas como duas isoformas na maioria dos tecidos de mamíferos, MAO-A e MAO-B, que diferem em seletividade a diferentes substratos, sensibilidade por inibidores e distribuição nos tecidos⁴.

Considerando a importância dessas substâncias, o objetivo deste trabalho consiste na investigação química de *Psychotria laciniata* Vell. e na avaliação da atividade dos extratos obtidos sobre as enzimas MAO-A e B.

Materiais e Métodos

Folhas de *P. laciniata* foram secas à temperatura ambiente e, em seguida, foram submetidas à maceração estática com EtOH. As frações de alcalóides foram obtidas através de procedimento de extração ácido-base (fig. 1) e, submetidas à análise cromatográfica por CLAE/DAD. Após análises por CLAE/DAD as frações EtOEt e CH₂Cl₂ foram reunidas por apresentarem perfis cromatográficos semelhantes originando a fração de alcalóides totais (LAE).

A atividade da fração LAE sobre as enzimas MAO-A e B foi avaliada através de ensaio fluorimétrico utilizando fração encefálica mitocondrial como fonte de enzima (fig. 2), kinuramina como substrato não seletivo, clorgilina como inibidor seletivo da MAO-A e pargilina como inibidor seletivo da MAO-B. Em uma etapa subsequente, LAE foi fracionado por CLMP dando origem a seis frações, sendo quatro majoritárias. A atividade destas frações sobre MAO-A e B também foi avaliada empregando o mesmo ensaio enzimático.

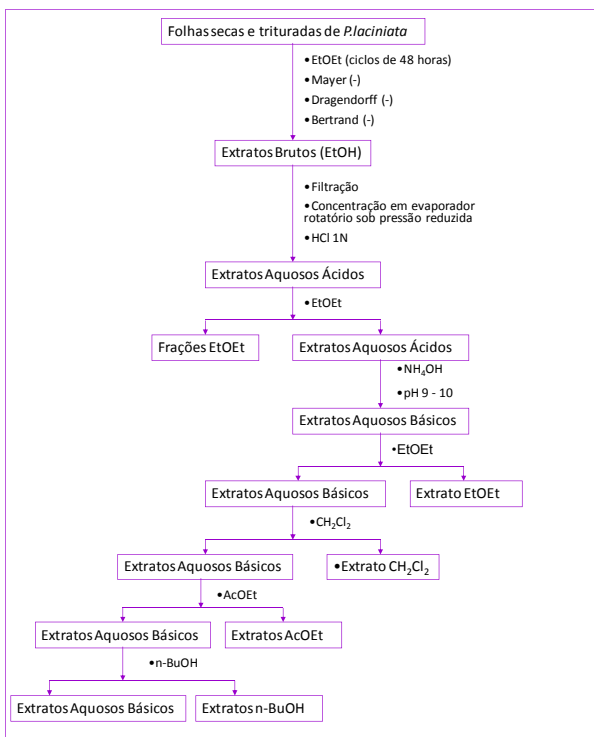


Fig.1. Obtenção dos extratos de alcalóides.

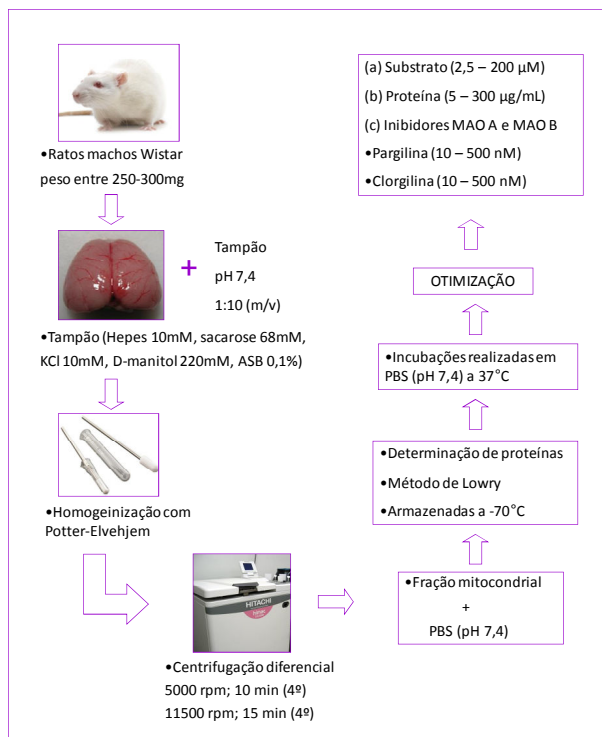


Fig.2. Obtenção da fração mitocondrial.

Resultados e Discussão

As frações *P. laciniata* LAE, AcOEt, *n*-BuOH foram submetidas a análises por CCD e CLAE/DAD para avaliação de seus perfis cromatográficos. Em seguida, essas frações foram submetidas a ensaio enzimático para avaliação de suas atividades sobre as enzimas MAO-A e B. No ensaio enzimático, LAE apresentou IC₅₀ de 2,024 e 61,15 µg/ml frente a MAO-A e B, respectivamente (Tabelas 1 e 2). A fração AcOEt apresentou IC₅₀ de 76,51 e 426,9 µg/ml e; a fração *n*-butanol apresentou IC₅₀ de 59,98 µg/ml para a MAO A e 306,6 µg/ml para a MAO B.

Em etapa posterior, LAE foi submetido a fracionamento por CLMP, permitindo a obtenção de 06 frações, das quais quatro foram consideradas majoritárias (fig.3). As quatro frações majoritárias foram avaliadas frente a MAO-A e B (Tabelas 1 e 2).

As análises por CLAE/DAD permitiram a detecção de alcalóides indol monoterpênicos (MIAs) com núcleos βCs, DHβCs, ou THβCs em todas as frações avaliadas. Ambos os extratos foram capazes de inibir as duas isoformas da MAO, com maior seletividade para MAO-A.

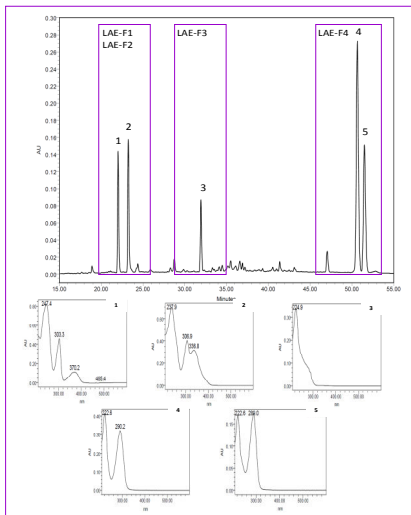


Fig.3. Cromatograma obtido por CLAE/DAD do extrato de alcalóides totais de *Placiniata*. Também são apresentados espectros de UV dos picos majoritários.

Tabela 1. Atividade inibitória das frações de *P.laciniata* sobre MAO A.

Amostra	µg/mL ^c	IC ₅₀ µg/mL	Coefficiente de Hill	Inibição Máxima (%)	R ²
LAE ^b	0,1-50	2.02 ± 1.08	1.606	97.25	0.9838
LAE-F1	0,1-500	14.66 ± 1.10	1.126	99.08	0.9909
LAE-F2	0,1-500	2.15 ± 1.15	0.9691	98.07	0.9885
LAE-F3	0,1-500	8.32 ± 1.12	0.8278	99.09	0.9916
LAE-F4	0,1-500	1.05 ± 1.15	0.8240	98.65	0.9956

Tabela 2. Atividade inibitória das frações de *P.laciniata* sobre MAO B.

Amostra	µg/mL ^c	IC ₅₀ µg/mL	Coefficiente de Hill	Inibição Máxima (%)	R ²
LAE ^b	1,0-250	61.15 ± 1.06	2.884	72.03	0.9774
LAE-F1	0,1-500	116.1 ± 1.28	1.035	85.28	0.9842
LAE-F2	0,1-500	57.74 ± 1.08	1.328	95.39	0.9909
LAE-F3	0,1-500	133.1 ± 1.15	1.968	88.35	0.9798
LAE-F4	0,1-500	50.77 ± 1.20	1.143	90.42	0.9747

^bLAE: Fração de alcalóides totais de *Placiniata*

^cConcentrações testadas para determinação do IC₅₀.

Referências

- G. A. Cordell et al., *Phytotherapy Research* 15, 183 (2001).
- M. Nepokroeff et al., *Systematic Botany* 24, 5 (1999).
- L. V. de Santos et al., *Biochem. Syst. Ecol.* 29, 1185 (2001).
- M.B.H. Youdim et al., *Nat Rev Neurosci* 2006; 7: 295-309.