

## Avaliação de parâmetros associados à toxicidade da fração de alcaloides de *Psychotria deflexa* em embriões de Zebrafish.

**Pablo R. Bertelli**<sup>1</sup> (PG)\*, **Eduardo P. Rico**<sup>2</sup> (PQ), **Lauren D. Grünspan**<sup>5</sup> (PG), **Luciane Minetto**<sup>5</sup> (PQ), **Renata B. S. Rambo**<sup>1</sup> (PQ), **André L. Gasper**<sup>3</sup> (PQ), **Sidnei M. e Silva**<sup>5</sup> (PQ), **Sérgio A. L. Bordignon**<sup>4</sup> (PQ), **Diogo L. de Oliveira**<sup>2</sup> (PQ), **Amélia T. Henriques**<sup>1</sup> (PQ). \*prbertelli@gmail.com

<sup>1</sup> Laboratório de Farmacognosia e Controle de Qualidade de Matérias Primas, UFRGS, Porto Alegre/RS.

<sup>2</sup> Departamento de Bioquímica, UFRGS, Porto Alegre/RS.

<sup>3</sup> Laboratório de Botânica, FURB – Blumenau/SC.

<sup>4</sup> Laboratório de Biologia, UNILASALLE – Canoas/RS.

<sup>5</sup> Instituto de Biotecnologia – UCS – Caxias do Sul/RS.

Palavras Chave: *Psychotria deflexa*, alcaloides, zebrafish, toxicidade.

### Introdução

O gênero *Psychotria* L. pertence à família Rubiaceae e é quimicamente caracterizado pela presença de alcaloides indol monoterpênicos<sup>1</sup>. Nosso grupo já demonstrou que estes alcaloides apresentam inibição enzimática, atuando fortemente frente às enzimas acetil e butiril colinesterase e as monoamina oxidases A e B, ambas correlacionadas a doenças neurodegenerativas. A espécie *P. deflexa* carece de evidências a respeito de suas possíveis ações farmacológicas. Para tanto, encontramos métodos alternativos, tais como o zebrafish, um modelo biológico útil para determinar efeitos farmacológicos e toxicológicos.

Desta forma, o objetivo do estudo foi caracterizar uma fração enriquecida de alcaloides (FEA) obtida de folhas *P. deflexa* e avaliar a toxicidade nos diferentes estágios embrionários utilizando zebrafish (FET) seguindo o estabelecido pela OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development)<sup>2</sup>.

### Resultados e Discussão

Folhas de *P. deflexa* (237 g) coletadas em Blumenau/SC, foram maceradas em MeOH (3 x por 7 dias) resultando em 36,57 g de tintura. Após o extrato bruto metanólico foi submetido a partição ácido-base para obtenção da fração enriquecida de alcaloides (FEA) onde seu rendimento foi de 0,19 % (0,0731 g). Esta fração foi analisada por HPLC-DAD e Espectrometria de Massas de Alta Resolução (EMAR), por infusão direta (Bruker micro-TOF-Q II<sup>®</sup>) para determinação prévia de seu perfil químico. Pela análise obtida por HPLC-DAD foi possível observar a presença de diferentes alcaloides do tipo indol monoterpênicos (MIAs). Análise por EMAR permitiu a identificação do produto majoritário com íon molecular  $m/z = 517,2188$  (C<sub>26</sub>H<sub>32</sub>N<sub>2</sub>O<sub>9</sub>), como ácido strictosidínico. Relatos da presença deste metabolito estão evidenciados para o gênero<sup>3</sup>.

Foi avaliada a toxicidade embrionária da FEA (0,5; 1; 10; 25; 50; 100; 150 e 200 µg/mL) em modelo *in vivo* de zebrafish (*Danio rerio*), sendo feita exposição semi-estática por 96h pós fertilização (hpf) onde foram avaliados, a cada 24 hpf, os seguintes parâmetros morfológicos: coagulação embrionária, formação de somitos, descolamento de cauda e presença de batimentos cardíacos. Os tratamentos nas concentrações de 0,5 a 50 µg/mL não provocaram alterações morfológicas aparentes após 96 hpf. Entretanto, as concentrações superiores resultaram na coagulação dos embriões ao final do período máximo de 48 hpf.

**Tabela 1.** % de sobreviventes em 96 hpf.

	Controles			[ ] FEA µg/mL					
	V <sup>1</sup>	Slz <sup>2</sup>	C+ <sup>3</sup>	0,5	1	5	10*	25*	50 <sup>#</sup>
%	100	100	0	100	100	100	83	60	50

\*diminuição de sobreviventes ocorreu em 24 hpf;

<sup>#</sup>diminuição de sobreviventes ocorreu em 96 hpf;

<sup>1</sup>DMSO a 1% em solução do zebrafish;

<sup>2</sup>Solução utilizada na criação do zebrafish;

<sup>3</sup>Controle positivo 3,4-dichloroanilina (4.0 mg/L);

### Conclusões

Determinou-se que a fração contendo alcaloides do tipo indol monoterpênicos da espécie *Psychotria deflexa* apresentou toxicidade nas concentrações máximas avaliadas. Portanto, a partir dos resultados preliminares, será possível estabelecer doses adequadas para estudo de parâmetros bioquímicos no sistema nervoso central do zebrafish, tais como a atividade colinérgica.

### Agradecimentos

CNPq, FAPERGS, CAPES

<sup>1</sup> Lopes, S.; *et al.*, *Biochem System Ecol.* **2004**, 32, 1187.

<sup>2</sup> <http://www.oecd.org>

<sup>3</sup> Passos, C. S.; *et al.*, *Phytochemistry.* **2013**, 86, 8.