



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

EFEITOS DO CHÁ DE AYAHUASCA (*BANISTERIOPSIS CAAPI* E *PSYCHOTRIA VIRIDIS*) EM MODELOS *IN VITRO* E *IN VIVO* DE TUMORES

LUCIANA SOARES GUEIROS DA MOTTA

Brasília-DF

2025

LUCIANA SOARES GUEIROS DA MOTTA

EFEITOS DO CHÁ DE AYAHUASCA (*BANISTERIOPSIS CAAPI* E *PSYCHOTRIA VIRIDIS*) EM MODELOS *IN VITRO* E *IN VIVO* DE TUMORES

Tese apresentada como requisito para obtenção do Título de Doutora em Ciências da Saúde pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências de Saúde da Universidade de Brasília

Orientadora: Prof^a Dr^a Aline Pic-Taylor

Brasília-DF

2025

LUCIANA SOARES GUEIROS DA MOTTA

EFEITOS DO CHÁ DE AYAHUASCA (*BANISTERIOPSIS CAAPI* E *PSYCHOTRIA VIRIDIS*) EM MODELOS *IN VITRO* E *IN VIVO* DE TUMORES

Tese apresentada como requisito para obtenção do Título de Doutora em Ciências da Saúde pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências de Saúde da Universidade de Brasília

BANCA EXAMINADORA

Presidente: Prof^a Dr^a Aline Pic-Taylor

Membros: Prof^a Dr^a Laise Rodrigues de Andrade

Prof^a Dr^a Thayres de Sousa Andrade

Prof^a Dr Rhaul de Oliveira

Prof^a Dr Willie Oliveira Pinheiro (suplente)

Universidade de Brasília – UnB

Brasília-DF

2025

Dedico este trabalho a Deus,

Pela força, sabedoria e inspiração concedidas em cada etapa desta jornada. Por estar presente em todos os momentos, iluminando o caminho, dando-me coragem nos desafios e serenidade nas decisões. Sem a Sua presença, nada disso seria possível.

"Dêem graças ao Senhor, porque Ele é bom. O Seu amor dura para sempre."

Salmo 136:1:

AGRADECIMENTOS

Início agradecendo todas as pessoas que contribuíram para que esse trabalho fosse realizado, sozinha não seria possível. A UnB pela oportunidade acadêmica. A Secretaria de Educação do Distrito Federal pela garantia do afastamento.

A professora Aline Pic-Taylor meus sinceros agradecimentos. Sua disposição em compartilhar conhecimento, por me motivar nos momentos de dificuldade e por construirmos juntas um ambiente de aprendizado e crescimento. Este trabalho não seria possível sem a sua ajuda, seu esforço e seu compromisso.

Aos companheiros de trabalho Doutor Raffael Castro, Professor Marco Célio, Técnico Djalma e aos alunos de PIBIC, aqui representados pela aluna Júlia Cypriano, esse trabalho não teria sido concluído sem a participação e ajuda de cada um de vocês, meus sinceros agradecimentos.

A minha família, para que pudesse me dedicar a esse trabalho vocês me deram suporte, força e esperança na ciência. Meu amigo, companheiro de jornada e marido Alexandre Motta, sem seu apoio esse sonho não seria realizado. Aos meus filhos, Isabela e Eduardo, vocês são a minha inspiração de futuro, minha vida não faria sentido sem vocês, com certeza sou uma pessoa melhor após essa oportunidade de ser mãe.

A minha mãe, exemplo de mulher forte e amiga, em todos os momentos estava disposta a me ajudar na concretização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

Ao meu pai, que infelizmente não está presente para ver a minha evolução profissional. Com certeza teria sido um enorme orgulho.

SUMÁRIO

ÍNDICE DE ABREVIATURAS	X
ÍNDICE DE GRÁFICOS E FIGURAS	XV
ÍNDICE DE TABELAS	XVII
RESUMO	XVIII
ABSTRACT	XX

1- CONTEXTUALIZAÇÃO DO PROBLEMA ABORDADO	1
2- INTRODUÇÃO E LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO	2
2.1 Origem e uso do chá de ayahuasca no contexto religioso	2
2.2 Ayahuasca: extrato natural e composição química	7
2.3 Mecanismos de ação das substâncias presentes no chá de ayahuasca	9
2.4 Serotonina	12
2.5 Psicoativos naturais em especial o DMT	15
2.6 Alcalóides <i>β</i> -carbolínicos	19
2.7 Câncer	21
2.7.1 O câncer ao longo do tempo	21
2.7.2 Crescimento celular e formação do câncer	24
2.7.3 Câncer de pele	30

3- POTENCIAL TERAPÊUTICO DA AYAHUASCA	32
3.1 Transtornos neurodegenerativos	33
3.2 Transtornos psicológicos/psiquiátricos	36
3.3 Transtornos por uso abusivo de substâncias	45
3.4 Outras aplicações terapêuticas	48

3.4.1 Genotoxicidade	48
3.4.2 Interação Farmacológica	49
3.4.3 Distúrbios alimentares	50
3.4.4 Sono	50
3.4.5 Atividade antibacteriana/antiparasitária	51
3.4.6 Atividade anti-inflamatória/antioxidante	53
3.4.7 Cicatrização	54
3.4.8 Atividade cerebral	54
3.4.9 Citotoxicidade	56
3.5.0 Função hepática	57
3.5.1 Biodisponibilidade/bioacessibilidade	57
3.5.2 Potencial antitumorigênico	58
2.5.3 β -carbolinas como agentes antitumorais	59
4- OBJETIVOS	63
4.1 Objetivos específicos	64
5- METODOLOGIA	65
5.1. Amostras do chá de ayahwasca	65
5.2 Caracterização química	65
5.3 Ensaio <i>in vitro</i>	66
5.3.1 Ensaio de viabilidade celular MTT	68
5.3.2 Ensaio de viabilidade celular Azul de Tripan	71
5.3.3 Ensaio por citometria de fluxo (FACS)	71
5.3.3.1 Fragmentação de DNA	72

5.3.3.2 Anexina V-FITC	73
5.4 Ensaio <i>in vivo</i>	74
5.4.1 Animais	74
5.4.2 Protocolo Experimental	75
5.4.3 Coleta de órgãos	78
5.4.4 Hemograma e análise bioquímica	78
5.4.5 Análises histológicas	79
6-ESTATÍSTICA	80
7- RESULTADOS	80
7.1 Análise quantitativa do chá de ayahuasca	80
7.2 Experimentos <i>in vitro</i>	81
7.2.1 Determinação da viabilidade celular MTT	81
7.2.2 Avaliação da integridade da membrana celular	85
7.2.3 Citometria de fluxo	89
7.2.3.1 Fragmentação do DNA e ciclo celular	89
7.2.3.2 Perfil de morte celular	93
7.3 Experimentos <i>in vivo</i>	100
7.3.1 Avaliação clínica dos animais	100
7.3.2 Análises hematológicas	104
7.3.3 Análises bioquímicas	107
7.3.4 Análises dos órgãos sistêmicos	107
7.3.4.1 Análises histológicas dos órgãos	116

8- DISCUSSÃO	120
9- CONCLUSÕES	126
10- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	128
ANEXO 1	146

LISTA DE ABREVIATURAS

AADC	Aminoácido Aromático Descarboxilase
ALT	Alanina Aminotransferase
ASI	Índice de Gravidade de Dependência
AST	Aspartato Aminotransferase
ATCC	American Type Culture Collection
B16F10	Melanoma Murino
BCA	Proteína de Ácido Bicinconínico
BHE	Barreira Hematoencefálica
BPRS	Escala Breve de Avaliação Psiquiátrica
Ca⁺	Cálcio
Caco	Carcioma do Cólon Humano
CADSS	Escala de Estados Dissociativos
CEUA	Comitê de Ética no Uso Animal
CNEA	Cadastro Nacional de Entidades Usuários de Ayahuasca
CONAD	Conselho Nacional Anti-drogas
CONFEN	Conselho Federal de Entorpecentes
CPP	Teste de Preferência de Lugar Condicionado
DEMEM	Dulbecco's Modified Eagle's Medium
DIMED	Divisão Nacional de Vigilância Sanitária de Medicamentos
DMSO	Dimetilsulfóxido
DMT	N,N-Dimetiltriptamina
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
DP	Doença de Parkinson

EEG	Eletroencefalograma
FACS	Citometria de Fluxo
FBS	Soro Fetal Bovino
FITC	Isotiocionato de Fluoresceína
GABA	Ácido Gama-Aminobutírico
GLOBOCAN	Global Cancer Observatory
GM-CSF	Colônias de Granulócitos e Macrófagos
HAM-D	Escala de Avaliação de Depressão de Hamilton
HBG	Hemoglobina
HCT	Hematócrito Total
HDACi	Inibidores de Histonas Desacetilase
HepA	Carcinoma Hipatocelular
H₂O₂	Peróxido de Hidrogênio
HRL	Harmalina
HRM	Harmina
HRS	Escala de Avaliação de Alucinógenos
5-HT	Serotonina
5-HTP	5-Hidroxitriptofano
IAA	Alcalóides Indólicos Aminas
IARC	Agência Internacional de Pesquisa em Câncer
IDH	Índice de Desenvolvimento Humano
IFN-δ	Interferon Gama
IL	Interleucinas
IMAO	Inibidores de Monoamina Oxidase

INCA	Instituto Nacional do Câncer
INDY	Ligante Benzotiazólico
INMT	Indoletilamina-N-Metiltransferase
i.p	intraperitoneal
ISRS	Inibidores Seletivos de Recaptação de Serotonina
JIFE	Junta Internacional de Fiscalização de Entorpecentes
K⁺	Potássio
LDH	Lactato Desidrogenase
LPS	Lipopolissacarídeo
LSD	Dietilamida Ácido Lisérgico
MADRS	Escala de <i>rating</i> de depressão de <i>Montgomery- Åsberg</i>
MAO	Monoamina Oxidase
MAPS	Associação Multidisciplinar de Estudos Psicodélicos
MCF7	Câncer de Mama Humano
MCH	Hemoglobina Corpuscular Média
N27	Células de Neurônios Dopaminérgicos
Na⁺	Sódio
NF-κβ	Fator Nuclear Kappa
NHDF	Normal Human Dermal Fibroblast
NIH3T3	Fibroblasto Murino
NMT	N-Metiltryptamina
NPCs	Células Neurais Humanas
NSCs	Células Tronco Neurais
OECD	Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico

OMS	Organização Mundial da Saúde
PCR	Proteína C-reativa
PI	Iodeto de Propídeo
PKC	Proteína Quinase C
PLT	Procalcitonina
RBC	Células Vermelhas
RBC	Eritrograma
RDW	Amplitude de Distribuição dos Eritrócitos
REM	Movimento Rápido dos Olhos
ROS	Espécies Reativas de Oxigênio
SAM	S-Adenosil-Metionina
SG2	Zona Sub Granular do Hipocampo
SGC	Células de Câncer Gástrico
S-MeO-DMT	S-metoxi-N,N-dimetiltriptamina
SNC	Sistema Nervoso Central
SPECT	Tomografia por Emissão de Fóton Único
TEER	Resistência Elétrica da Membrana Transendotelial
TEPT	Transtorno de Estresse Pós-Traumático
TGI	Trato Gastrointestinal
THH	Tetrahydro-Harmalina
TIMPs	Inibidores Teciduais de Metaloproteinases
TNF	Fator de Necrose Termoral
U87MG	Glioblastoma Humano

UDV	União do Vegetal
UnB	Universidade de Brasília
UPS	Sistema Ubiquitina-Proteasoma
UV	Ultravioleta
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
WBC	Leucograma
WBC	Contagem de Células Brancas
WHO	World Health Organization
YMRS	Escala de Mania de <i>Yong</i>

ÍNDICE DE GRÁFICOS E FIGURAS

Figura 1: Vegetais do preparo do chá de ayahuasca	1
Figura 2: Estruturas químicas	9
Figura 3: Biossíntese da serotonina	12
Figura 4: Biossíntese do DMT	19
Figura 5: Estruturas presentes nos alcalóides β -carbolínicos	20
Figura 6: Estágios da carcinogênese	27
Figura 7: Redução de risco de câncer	28
Figura 8: Mecanismo bioquímico do MTT.....	68
Figura 9: Esquema do ensaio do MTT	70
Figura 10: Representação da placa de 96 poços	70
Figura 11: Desenho experimental	75
Figura 12: Inoculação de células B16F10.....	73
Figura 13: Cromatograma e espectro de massa do DMT	80
Figura 14: Viabilidade das células B16F10	81
Figura 15: Viabilidade das células U87MG	82
Figura 16: Viabilidade das células MCF7	83
Figura 17: Viabilidade das células NIH3T3	84
Figura 18: Avaliação da integridade da membrana celular- B16F10	85
Figura 19: Avaliação da integridade da membrana celular- U87MG	86
Figura 20: Avaliação da integridade da membrana celular- MCF7	87
Figura 21: Avaliação da integridade da membrana celular- NIH3T3	88
Figura 22: Avaliação da fragmentação do DNA- B16F10	89
Figura 23: Avaliação das fases do ciclo celular- B16F10	90
Figura 24: Avaliação da fragmentação do DNA- U87MG	91
Figura 25: Avaliação da fragmentação do DNA- MCF7	92
Figura 26: Avaliação da fragmentação do DNA- NIH3T3	93
Figura 27: Avaliação do perfil de morte- B16F10	94
Figura 28: Avaliação do perfil de morte- U87MG	96

Figura 29: Avaliação do perfil de morte- MCF7	97
Figura 30: Avaliação do perfil de morte- NIH3T3	99
Figura 31: Volume tumoral no dia da eutanásia animal	102
Figura 32: Imagem representativa do tumor.....	103
Figura 33: Metástase de tumor de melanoma induzido por B16F10.....	104
Figura 34: Peso relativo e absoluto: tumor, pulmão, estômago e intestino	108
Figura 35: Peso relativo e absoluto do cérebro	109
Figura 36: Peso relativo e absoluto do coração	110
Figura 37: Peso relativo e absoluto do timo	111
Figura 38: Peso relativo e absoluto dos rins	112
Figura 39: Peso relativo e absoluto do fígado	113
Figura 40: Peso relativo e absoluto do baço	114
Figura 41: Correlações peso do tumor e órgãos	115
Figura 42: Parênquima pulmonar.....	117
Figura 43: Córtex renal.....	117
Figura 44: Necrose tumoral	118
Figura 45: Vista panorâmica de melanoma maligno	118
Figura 46: Melanoma ulcerando a pele	119
Figura 47: Nódulos de melanoma necrótico	119
Figura 48: Vista panorâmica do hipocampo.....	120

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Valores do IC ₅₀	85
Tabela 2: Acompanhamento do peso animal.....	101
Tabela 3: Volume tumoral <i>in vivo</i>	102
Tabela 4: Eritrograma.....	104
Tabela 5: Leucograma.....	105
Tabela 6: Plaquetograma e procalcitonina.....	106
Tabela 7: Bioquímica.....	107

RESUMO

O câncer é a principal causa de morte e uma importante barreira para o aumento da expectativa de vida em todos os países do mundo. Os tratamentos convencionais apresentam efeitos adversos consideráveis, sendo necessárias pesquisas para o desenvolvimento de novas terapias, e, nesse panorama, o chá de ayahuasca tem se destacado. A ayahuasca é uma infusão vegetal psicoativa da Amazônia que desde tempos remotos é preparado e tomado pelos índios como instrumento espiritual e ritual, de proteção e cura em diversas regiões do mundo. O chá de ayahuasca consiste, em geral, na combinação de duas plantas, feito por meio da decocção e infusão do cipó *Banisteriopsis caapi* (“mariri”) e das folhas da *Psychotria viridis* (“chacrona”). Sua composição química fundamental contém as β -carbolinas harmina (HRM), harmalina (HRL) e tetrahydroharmina (THH) presentes no mariri, enquanto a chacrona contém o alcalóide principal, o N, N-Dimetiltriptamina (DMT), substância molecular semelhante ao neurotransmissor serotonina (5-HT), com propriedades alucinógenas. Sendo assim, esse trabalho teve por objetivo investigar os efeitos da exposição ao chá ayahuasca em linhagens tumorais *in vitro* e em modelo experimental de tumor *in vivo*. O chá de ayahuasca, cedido pela UDV, foi quantificado por GC-MS/MS e utilizado nos ensaios *in vitro* e *in vivo*. Para os ensaios *in vitro* foram utilizadas as linhagens celulares: B16F10, U87MG, MCF7 e NIH3T3, que foram incubadas, plaqueadas e tratadas com diferentes doses de chá de ayahuasca ou tratadas com controle positivo ou controle negativo. Os ensaios de viabilidade celular e integridade da membrana celular foram realizados pelas técnicas: MTT e coloração com azul de tripan. Para avaliar a fragmentação do DNA, ciclo celular, viabilidade das células e perfil de morte celular foram realizados ensaios por citometria de fluxo (FACS) com protocolos bem definidos na literatura que envolvem o uso de iodeto de propídeo, RNase e anexina V. Os ensaios *in vivo* foram realizados com camundongos C57BL6, que foram inoculados com células de melanoma, e tratados com ayahuasca ou controle positivo ou negativo por 10 dias consecutivos. 48 horas após o último tratamento os animais foram eutanasiados com dose letal de anestésicos, o sangue foi retirado para análises hematológicas e bioquímicas, os órgãos de tumores foram coletados para análises macroscópicas e histológicas. Nos testes *in vitro*, os resultados de viabilidade celular após incubação por 24 horas com chá de ayahuasca em diferentes doses, promoveu para a linhagem tumoral B16F10 redução da viabilidade celular correlacionada ao aumento da dose de tratamento que se tornou significativa a partir de 1 mg/mL à 5 mg/mL, esse grupo celular se mostrou mais sensível ao tratamento, já que, na maior dose apresentou menor viabilidade e, a partir desse resultado, seguimos para os ensaios em animais com esse tipo celular. A linhagem tumoral U87MG apresentou tendência de redução da viabilidade nas menores doses de tratamento, que foi significativa nas doses de 0,5; 1; 2,5 e 3,5 mg/mL. Curiosamente com o aumento da dose de tratamento para 4 mg/mL houve aumento significativo da viabilidade celular. A linhagem tumoral MCF7 houve redução significativa da viabilidade celular nas doses de 1; 3,5 e 5 mg/mL. O tratamento com o chá de ayahuasca para a linhagem não-tumoral NIH3T3, promoveu aumento na viabilidade celular quando as células foram tratadas com as menores doses, que foi revertida, a partir da dose de 1 mg/mL e iniciou-se uma acentuada redução na viabilidade celular. O grupo controle positivo, no geral, apresentou redução significativa da viabilidade celular nas maiores doses de tratamento. A partir dos resultados dos testes de viabilidade celular foi calculado o IC₅₀ de cada linhagem celular: B16F10 IC₅₀ é 1 mg/mL; U87MG o IC₅₀ é 1,5 mg/mL; NIH3T3 e MCF7 o IC₅₀ é 2,5 mg/mL. Nos testes de integridade da membrana celular o IC₅₀ do chá de ayahuasca promoveu tendência de comprometimento das membranas celulares em todas as linhagens testadas. Os resultados

para os ensaios de citometria de fluxo o IC₅₀ do chá de ayahuasca promoveu fragmentação do DNA em todas as linhagens celulares testadas, sendo o câncer de mama a linhagem mais sensível a esse tratamento. No ensaio de fases do ciclo celular a linhagem tumoral B16F10 promoveu parada do ciclo celular em G2. Nos ensaios que avaliaram perfil de morte celular, as células em necrose estavam aumentadas nos tratamentos com cisplatina e IC₅₀, quando comparadas com o grupo controle, nas diferentes linhagens celulares, a exceção do câncer de mama. Já as mortes das células em apoptose tardia/necrose e apoptose precoce se mostraram aumentadas em todas as linhagens testadas nos tratamentos com cisplatina e IC₅₀ quando comparadas com o grupo controle. Em contrapartida as células viáveis estavam diminuídas. Nos testes *in vivo*, após a inoculação e crescimento do tumor de melanoma, os animais receberam oralmente as doses de 1X, 2X e 5X, uma vez ao dia, por 10 dias consecutivos. A partir do 13º dia de experimento, houve redução significativa do peso animal quando comparamos os grupos controles e o grupo de maior dose de tratamento, no 19º dia de experimento essa redução significativa da média dos pesos atingiu todos os grupos tratados com ayahuasca. Ainda que não significativo existe uma tendência de redução do volume tumoral nos animais tratados com o chá de ayahuasca. As análises do hemograma e bioquímica revelaram uma tendência de inflamação crônica, disfunção hepática e renal. O peso dos órgãos: pulmão, estômago, intestino e o tumor não apresentaram diferenças significantes entre os grupos experimentais. Os demais órgãos como cérebro, coração e fígado observou-se uma tendência de aumento do peso relativo dos animais tratados com ayahuasca, em contrapartida, houve uma tendência de diminuição do peso relativo do timo e peso absoluto do rim direito dos animais tratados com ayahuasca. O órgão que apresentou maior variação significativa dos resultados para peso foi o baço. Nas análises histológicas os achados mais relevantes foram relacionados à necrose tumoral que foram diminuídas com significância nos grupos tratados com ayahuasca com dose 2X e tratados com cisplatina quando comparados ao grupo controle. A morte neuronal foi maior nos grupos tratados com chá de ayahuasca e cisplatina do que no grupo controle. Ainda que os resultados *in vitro* para a linhagem tumoral de B16F10 tenham sido promissores não se refletiram em cura animal, porém alguns resultados direcionam a uma possível tendência terapêutica. Sendo assim, mais estudos são necessários para a complementação dos dados apresentados em busca de doses que possam efetivamente apresentar efeito terapêutico *in vivo*.

Palavras-chave: Ayahuasca, câncer, melanoma, camundongos, C57BL6, efeito antitumoral, terapêutica do câncer, tratamento do câncer, B16F10, MCF7, U87MG, NIH3T3.

ABSTRACT

Cancer is the leading cause of death and a major barrier to increasing life expectancy in every country in the world. Conventional treatments have considerable adverse effects, so research is needed to develop new therapies, and in this context ayahuasca tea has stood out. Ayahuasca is a psychoactive plant infusion from the Amazon that has been prepared and taken by Indians since ancient times as a spiritual and ritual tool for protection and healing in various regions of the world. Ayahuasca tea generally consists of a combination of two plants, made by decocting and infusing *Banisteriopsis caapi* (“mariri”) and *Psychotria viridis* (“chacrona”) leaves. Its fundamental chemical composition contains the β -carbolines harmine (HRM), harmaline (HRL) and tetrahydroharmine (THH) present in mariri, while chacrona contains the main alkaloid, N,N-Dimethyltryptamine (DMT), a molecular substance similar to the neurotransmitter serotonin (5-HT), with hallucinogenic properties. Therefore, the aim of this study was to investigate the effects of exposure to ayahuasca tea on tumor cell lines *in vitro* and in an experimental tumor model *in vivo*. Ayahuasca tea, provided by UDV, was quantified by GC-MS/MS and used in the *in vitro* and *in vivo* tests. For the *in vitro* tests, the following cell lines were used: B16F10, U87MG, MCF7 and NIH3T3, which were incubated, plated and treated with different doses of ayahuasca tea or treated with a positive control or negative control. Cell viability and cell membrane integrity tests were carried out using the MTT and trypan blue staining techniques. To assess DNA fragmentation, cell cycle, cell viability and cell death profile, flow cytometry (FACS) tests were carried out using well-defined protocols in the literature involving the use of propidium iodide, RNase and annexin V. The *in vivo* tests were carried out on C57BL6 mice, which were inoculated with melanoma cells and treated with ayahuasca or a positive or negative control for 10 consecutive days. 48 hours after the last treatment, the animals were euthanized with a lethal dose of anesthetics, blood was drawn for hematological and biochemical analyses, and tumor organs were collected for macroscopic and histological analyses. In the *in vitro* tests, the results of cell viability after incubation for 24 hours with ayahuasca tea at different doses promoted a reduction in cell viability for the B16F10 tumor line correlated with the increase in treatment dose, which became significant from 1 mg/mL to 5 mg/mL. This cell group proved to be more sensitive to treatment, since at the highest dose it showed lower viability and, based on this result, we moved on to animal tests with this cell type. The U87MG tumor line showed a trend towards reduced viability at the lowest treatment doses, which was significant at 0,5; 1; 2,5 and 3,5 mg/mL. Interestingly, when the treatment dose was increased to 4 mg/mL, there was a significant increase in cell viability. The MCF7 tumor line showed a significant reduction in cell viability at doses of 1; 3,5 and 5 mg/mL. Treatment with ayahuasca tea for the NIH3T3 non-tumor cell line promoted an increase in cell viability when the cells were treated with the lowest doses, which was reversed from the 1 mg/mL dose onwards and a marked reduction in cell viability began. In general, the positive control group showed a significant reduction in cell viability at the higher treatment doses. The IC_{50} of each cell line was calculated from the results of the cell viability tests: B16F10 IC_{50} is 1 mg/mL; U87MG IC_{50} is 1,5 mg/mL; NIH3T3 and MCF7 IC_{50} is 2,5 mg/mL. In the cell membrane integrity tests, the IC_{50} of ayahuasca tea led to a tendency for cell membranes to be compromised in all the strains tested. The results for the flow cytometry assays showed that the IC_{50} of ayahuasca tea promoted DNA fragmentation in all the cell lines tested, with breast cancer being the most sensitive lineage to this treatment. In the cell cycle phase test, the B16F10 tumor line promoted cell cycle arrest in G2. In the tests that evaluated cell death profiles, necrotic cells were increased in the treatments with cisplatin and IC_{50} , when compared to the control group, in the different cell lines, with the exception of breast cancer. On the other hand, cell death in late apoptosis/necrosis and early apoptosis was

increased in all the cell lines tested in the treatments with cisplatin and IC_{50} when compared to the control group. On the other hand, viable cells were reduced. In the *in vivo* tests, after inoculation and growth of the melanoma tumor, the animals received oral doses of 1X, 2X and 5X once a day for 10 consecutive days. From the 13th day of the experiment, there was a significant reduction in animal weight when comparing the control groups and the group with the highest dose of treatment. On the 19th day of the experiment, this significant reduction in average weight affected all the groups treated with ayahuasca. Although not significant, there was a trend towards a reduction in tumor volume in the animals treated with ayahuasca tea. The blood count and biochemical analyses revealed a trend towards chronic inflammation, liver and kidney dysfunction. The weight of the organs: lung, stomach, intestine and tumor showed no significant differences between the experimental groups. For the other organs, such as the brain, heart and liver, there was a tendency for the relative weight of the animals treated with ayahuasca to increase; on the other hand, there was a tendency for the relative weight of the thymus and the absolute weight of the right kidney of the animals treated with ayahuasca to decrease. The organ that showed the greatest significant variation in weight was the spleen. In the histological analyses, the most relevant findings were related to tumor necrosis, which was significantly reduced in the groups treated with ayahuasca at a dose of 2X and treated with cisplatin when compared to the control group. Neuronal death was greater in the groups treated with ayahuasca tea and cisplatin than in the control group. Although the *in vitro* results for the B16F10 tumor line were promising, they were not reflected in an animal cure, but some results point to a possible therapeutic trend. Therefore, further studies are needed to complement the data presented in order to find doses that can effectively have a therapeutic effect *in vivo*.

Keywords: Ayahuasca, cancer, melanoma, mouse, C56BL6, antitumor effect, cancer therapeutics, cancer treatment, B16F10, MCF7, U87MG, NIH3T3.

1- CONTEXTUALIZAÇÃO DO PROBLEMA ABORDADO

A história dos psicoativos como instrumento de cura de diversas culturas remonta às civilizações antigas, quando plantas e substâncias psicotrópicas eram utilizadas em rituais xamânicos e religiosos para tratar doenças do corpo e da mente. Evidências arqueológicas e etnográficas sugerem que essas substâncias foram empregadas em contextos rituais, medicinais e espirituais há milhares de anos (SAMORINI, 1992).

As primeiras evidências que sugerem o uso dos psicoativos, os cogumelos psilocibínicos, datam de pelo menos 9.000 anos a.C., na África, quando as pinturas rupestres tinham imagens antropomórficas semelhantes a cogumelos emergindo de suas cabeças, sugerindo estado alterado de consciência (SAMORINI, 1992). O cacto peyote na América do Norte era consumido por povos indígenas no Texas para fins espirituais e terapêuticos há 5.700 anos a.C. (EL-SEEDI *et al.*, 2005). Os sumérios chamavam a papoula de ópio de “planta da alegria” e foi utilizada para fins medicinais e recreativos há 3.700 anos a.C. (COURTWRIGHT, 2001). No atual Equador, em um ritual xamânico, foi encontrado um recipiente de couro, datado por arqueólogos de aproximadamente 1.000 anos atrás, contendo traços de DMT e harmalina, os principais componentes da ayahuasca (MILLER *et al.*, 2019). Em sua origem a ayahuasca foi utilizada com finalidade espiritual, medicinal, para a expansão de consciência e conhecimento (SCHULTES & HOFMANN, 1979).

O uso de terapias alternativas e/ou complementares para o tratamento de inúmeras doenças incluindo o câncer tem atraído à atenção da comunidade científica. O câncer é uma das principais causas de morte em todo o mundo (SUNG *et al.*, 2021), afetando milhões de pessoas a cada ano. No Brasil, as mulheres sofrem com a maior incidência de câncer de mama e os homens de câncer de próstata (SANTOS *et al.* 2023). Em relação à mortalidade, o câncer de pulmão ocupa primeiro lugar em causa de morte, seguindo de mama e próstata. Em números de prevalência nos últimos 5 anos, temos 1.500.000 de pessoas vivendo com câncer no nosso país (SUNG *et al.*, 2021).

Seu tratamento, embora tenha avançado consideravelmente nas últimas décadas, ainda enfrenta diversas limitações como a resistência (HOLOHAN *et al.*, 2013), efeitos colaterais e toxicidade (WAMPLER & PIEKARZ, 2014). Sendo assim, novas abordagens terapêuticas, multialvo, são fundamentais para superar essas barreiras e melhorar os resultados para os pacientes.

A ayahuasca é composta principalmente por dois ingredientes: o cipó mariri, *Banisteriopsis caapi*, e a folha do arbusto chacrona, *Psychotria viridis*, juntas contêm

respectivamente os alcalóides β -carbolinas (inibidores da monoamino- oxidase) e DMT (estrutura molecular semelhante ao neurotransmissor serotonina) que alteram a consciência e surgem como alternativa para o tratamento de inúmeras doenças.

Resultados robustos relatam a melhora/cura da depressão e ansiedade (OSÓRIO *et al.*, 2015; SANCHES *et al.*, 2016; PALHANO-FONTES *et al.*, 2017 e 2019) e no uso abusivo do álcool (HALPERN *et al.*, 2008; OLIVEIRA-LIMA *et al.*, 2015; BERLOWITZ *et al.*, 2019; ALMEIDA *et al.*, 2022). Novas, escassas e preliminares pesquisas incluem a ayahuasca no tratamento do câncer (BOUSO *et al.*, 2015; SCHMID *et al.*, 2010; SCHENBERG, 2013), porém inúmeros relatos de membros de religiões ayahuasqueiras enfatizam o poder terapêutico da ayahuasca no câncer e optam por utilizá-la como terapia principal ou associada no tratamento de diversos tipos de câncer. Neste sentido, o presente estudo busca investigar o potencial efeito terapêutico da ayahuasca no tratamento oncológico. O objetivo é distinguir os efeitos atribuídos ao 'acreditar' e ao potencial curador espiritual da ayahuasca do impacto biológico das substâncias presentes na cocção. Para tal optamos por experimentos *in vitro* e *in vivo* com modelos tumorigênicos.

2- INTRODUÇÃO E LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO

2.1 - Origem e uso do chá de ayahuasca no contexto religioso

A palavra ayahuasca é originária da língua quéchua cuja etimologia é: “Aya”: “pessoa morta, espírito” e “Waska”: “corda, liana, cipó”. Numa tradução literal, a palavra significa “corda dos mortos” ou “trepadeira das almas” uma referência ao cipó utilizado na preparação da bebida (LUNA, 1986; TUPPER, 2002). Também chamado de “Yagé” ou “Hoasca” pelos nativos da Amazônia e América do Sul (NICHOLS, 2004).

A ayahuasca é uma infusão vegetal psicoativa da Amazônia que desde tempos imemoráveis é preparado e tomado pelos povos originários como instrumento espiritual e ritual, com extrema religiosidade. A origem do uso da ayahuasca não é bem conhecida, mas segundo NARANJO (1986) descobertas arqueológicas indicam que o uso da bebida data da pré-história.

Na década de 30, a incorporação da ayahuasca a rituais sincréticos como bebida sagrada serviu como base para surgimento de novas comunidades religiosas, sendo então disseminada pelo Brasil. Esses movimentos religiosos incorporaram elementos do espiritismo africano, liturgia cristã e tradições indígenas em práticas que se expandiram

nos grandes centros urbanos (LABATE, MACRAE *et al.*, 2010). No contexto internacional, o uso do chá de ayahuasca é difundido em vários países da América do Sul e nos últimos anos existem adeptos nos Estados Unidos e em países europeus como Alemanha, Espanha, França e Inglaterra (TUPPER, 2006). No Brasil, três comunidades religiosas se destacam pelo uso da ayahuasca: o Santo Daime, a Barquinha e a União do Vegetal (UDV) (CAZENAVE, 1996; COSTA *et al.*, 2005; MARTINEZ *et al.*, 2009).

Ayahuasca em sua forma original é formada pela mistura de dois ingredientes principais: o cipó mariri, *Banisteriopsis caapi*, e a folha do arbusto chacrona, *Psychotria viridis* (Figura 1), que são fervidos em água. O preparo do chá varia entre os grupos religiosos, principalmente com relação ao tempo de cozimento e quantidade de mariri e chacrona utilizado. O chá tem sabor amargo, não é agradável de beber, coloração castanha e aspecto oleoso. Contudo, ao longo dos anos, variações dessa decocção foram desenvolvidas com mais de cem plantas diferentes utilizadas na preparação da ayahuasca (GONÇALVES *et al.*, 2021).

Figura 1: Vegetais do preparo do chá de ayahuasca.



Figura 1: Folhas: chacrona - *Psychotria viridis* e o cipó: mariri - *Banisteriopsis caapi*.

Fonte: Luciana Gueiros, maio de 2011.

O Santo Daime foi fundado no Brasil em Rio Branco – Acre, no ano de 1930, pelo maranhense e ex-seringueiro Raimundo Irineu Serra conhecido como *curador*. A palavra Daime vem do verbo “dar” mais o pronome “me”, como um pedido: – “Dai-me força, dai-me luz” (LABETE & ARAÚJO, 2002). Nessa comunidade a ayahuasca é conhecida como chá do Santo Daime e, é considerada como sacramento, mas pode ser

usado também como um tratamento para uma variedade de doenças. Os membros do Santo Daime podem inclusive fazer uso da ayahuasca durante a gravidez e parto, bem como em fase terminal de doenças, sendo utilizado como parte dos cuidados paliativos (TUPPER, 2009).

O ritual de preparo do chá é realizado na última lua nova do mês, a infusão é preparada e em seguida ingerida junto aos cânticos dos hinos. A música cantada e tocada durante a cerimônia ajuda a harmonizar o grupo. Os instrumentos de percussão com batidas forte são usados para trazer os estados alterados de consciência e invocação dos espíritos, além de ajudar na interpretação das miragens (MACRAE, 2004).

A Barquinha foi fundada também em Rio Branco -Acre- em 1940 por Daniel Pereira de Mattos um ex-escravo. Essa religião ayahuasqueira também é formada por elementos do catolicismo popular, xamanismo indígena, cristãos, afro-brasileiros e com grande influência da umbanda (PIRES *et al.*, 2010), e por isso, é considerada por alguns autores como a mais eclética e mais rica em termos de imagens e ritual das três religiões (LABETE, 2004). O principal elemento é o Daime onde os praticantes da religião adquirem uma percepção diferenciada da realidade entrando em estado alterado de consciência (LABETE & ARAÚJO, 2002). É fiel as origens xamânicas e muitas das atividades estão dirigidas a cura de doenças físicas e psicossociais como o alcoolismo e o desemprego (MACRAE, 2004).

A União do Vegetal (UDV) é a mais nova das religiões ayahuasqueiras, a com o maior número de associados e a mais institucionalmente organizada (MACRAE, 2004). Seu fundador foi o baiano José Gabriel da Costa em Porto Velho - Rondônia em 1961. Com sede em Planaltina (Goiás) seus ensinamentos são baseados em uma doutrina cristã-reencarnacionista, permeada por elementos do espiritismo kardecista e de outras manifestações religiosas urbanas, além disso, possui um caráter mais sóbrio e menos festivo, não sendo permitido a seus membros o uso de bebidas alcoólicas, tabaco, outras drogas, delitos, bem como dançar ou assistir as cerimônias de outras religiões ayahuasqueiras (PIRES *et al.*, 2010; COSTA *et al.*, 2005).

Os frequentadores da UDV ingerem o chá em sessões quinzenais regulares que duram aproximadamente quatro horas, em datas comemorativas e nos fins de semana de preparo do chá. O culto é iniciado com consumo do chá pelos membros que é visto como uma forma de atingir um estado de lucidez espiritual. Durante as horas seguintes ocorrem vários períodos de silêncio, interrompidos por chamadas ou canções que evocariam os espíritos protetores e perguntas são levantadas pelos integrantes aos

mestres, que conduzem a sessão. Esta doutrina mostra-se extremamente cuidadosa, organizada e fundamentada em seus conceitos e valores morais e religiosos.

O nome dado ao efeito psicoativo do chá pelos membros da religião é *burracheira* e significa “força estranha” ou “presença de força e luz”. Para os frequentadores a *burracheira* nem sempre é uma experiência fácil, embora sempre benéfica, purificadora e esclarecedora. É consenso entre os integrantes das religiões ayahuasqueiras que após a ingestão do chá de ayahuasca os indivíduos conseguem alcançar um estado alterado de consciência que permite uma reflexão profunda.

Há mais de 20 anos a UDV criou o “Hoasca Project” com a intenção de entender melhor como a ayahuasca age sobre o corpo e o cérebro. Esse projeto apoia estudos científicos em parceria com universidades brasileiras e estrangeiras.

Com a globalização do chá de ayahuasca existiram pressões da sociedade acerca da legalização do consumo desta substância, isso porque, as religiões ayahuasqueiras não se enquadram no padrão tradicional de culto espiritual, principalmente por conter um alucinógeno. O N,N-dimetilpriptamina (DMT) componente da ayahuasca, é uma substância controlada no Brasil (Portaria 1998) e internacionalmente sob a Convenção das Nações Unidas sobre Substâncias Psicotrópicas (*Convention on Psychotropic Substance*, 1971), o que significa que é ilegal fabricá-la, comprá-la, possuí-la ou distribuí-la. No entanto, a própria decocção da ayahuasca não se encontra sob controle internacional segundo Junta Internacional de Fiscalização de Entorpecentes (JIFE).

O processo de legalização da ayahuasca iniciou-se em 1986 pelo Conselho Federal de Entorpecentes (CONFEN), que retirou a bebida da lista de substâncias proscritas da Divisão Nacional de Vigilância Sanitária de Medicamentos (DIMED) o que viabilizou seu uso ritualístico. O processo de legalização teve continuidade com a Resolução Nº 4 do Conselho Nacional Anti-Drogas (CONAD) de 4 de novembro de 2004 que reconheceu o direito ao uso do chá em contextos religiosos, inclusive por menores de idade e grávidas, decisão essa que foi reiterada pela Resolução nº 1/2010. Segundo a resolução, o uso da ayahuasca por menores de 18 (dezoito) anos deve permanecer como objeto de deliberação dos pais ou responsáveis, e cabem as grávidas a responsabilidade do uso, atendendo, permanentemente, a preservação do desenvolvimento e da estruturação da personalidade do menor e do nascituro (CONAD, 2004). Essa última resolução, não só legitima o uso religioso da ayahuasca, como proíbe sua comercialização, aborda a definição do que vem a ser seu possível uso terapêutico e reforça a necessidade de estudos científicos. Também propôs a elaboração de um

Cadastro Nacional de Entidades usuárias da Ayahuasca (CNEA), de caráter facultativo. Até 2010, o CNEA contava com quase uma centena de entidades ayahuasqueiras cadastradas.

Adicionalmente, em alguns países como o Brasil e Peru a ayahuasca foi reconhecida em 2008 como patrimônio cultural de utilidade pública e como patrimônio histórico, em outros, como Rússia e França a ayahuasca continua proibida.

Atualmente, a expansão do uso da ayahuasca extrapola os limites de seu uso com fins religiosos ocorrendo mais significativamente na Europa e Américas (CALLAWAY & GROB, 1998) Ásia e África (GONÇALVES *et al.*, 2023). Tal fato parece estar relacionado, ao menos em parte, com a facilidade de aquisição de pacotes turísticos por clientela que, ávida por experiências novas, se aventuram em expedições em florestas, onde são convidados a experimentar a bebida em rituais (MCKENNA, 2004). O uso do chá também cresce em situações não-ritualísticas, como por exemplo, a título de experiências terapêuticas e o uso ilícito, onde se encontra um comércio intenso e lucrativo com ofertas na internet e jornais. Definitivamente, nos tempos atuais, a ayahuasca ainda é utilizada na sua forma tradicional, porém também é utilizada em sua versão terapêutica moderna e recreativa (GONÇALVES *et al.*, 2023). Essa tendência de aumento do consumo do chá de ayahuasca levanta preocupações à comunidade científica com o objetivo de garantir que seu consumo não leve a problemas médicos e psicossociais tipicamente associados a drogas de abuso.

Segundo COSTA *et al.* (2005) a liberação da ayahuasca para uso em rituais religiosos no Brasil representou liberdade de culto e um aumento significativo do número de adeptos do chá. No entanto, o uso da ayahuasca ultrapassa práticas religiosas e tem sido usado para fins recreativos por pessoas que procuram apenas os efeitos psicodélicos da infusão. Porém, nota-se que, a utilização do chá pelas três religiões ayahuasqueiras citadas é exclusivamente religiosa, não caracterizando abuso ou fins ilícitos, apesar de não se levar em consideração os possíveis efeitos tóxicos das substâncias presentes no chá por esses usuários, que apenas levam em consideração seus possíveis efeitos terapêuticos e benefícios.

SÁNCHEZ & BOUSO (2015) publicaram em sua revisão a existência de casos de pessoas que após a ingestão do chá de ayahuasca tiveram transtornos psicóticos, que exigiram medicação ou mesmo tratamento continuado, em alguns destes casos havia uma condição psiquiátrica preexistente ou um histórico familiar, mas em outros foram pessoas sem história conhecida de transtornos psicológicos.

É provável que o consumo do chá de ayahuasca, assim como de outros psicodélicos naturais, aumente nos próximos anos. Por isso, é essencial que os órgãos reguladores se preparem para um uso mais amplo desses psicodélicos, adotando medidas que garantam sua utilização de forma segura e responsável. Para acompanhar esse aumento de consumo, estamos presenciando a expansão da ciência emergente dos psicodélicos (BELOUIN *et al.* 2022) com a intenção de desvendar seus efeitos terapêuticos e garantir um uso seguro dessas substâncias. Espera-se que o trabalho apresentado aqui acrescentará conhecimentos nesse aspecto.

2.2 - Ayahuasca: extrato natural e composição química

Não há uniformidade nos rituais de preparo e uso da ayahuasca dentre as diversas comunidades ayahuasqueiras. O ponto comum no preparo é a cocção da *Banisteriopsis caapi* e da *Psychotria viridis* misturadas em quantidades estabelecidas pelo xamã (mestre) durante cerimônia de preparo.

O cipó *Banisteriopsis caapi*, da família *Malpighiaceae*, conhecido como mariri, nativo da Amazônia e dos Andes contém os alcalóides β -carbolinas harmina (HRM), harmalina (HRL) e tetrahydro-harmalina (THH). A harmina e a harmalina possuem a capacidade de inibir reversivelmente a enzima monoamino oxidase (MAO), que desamina preferencialmente, a noradrenalina e a serotonina, mas também a dopamina. Já a tetrahydroharmalina, presente em quantidade menores, tem a capacidade de inibir a recaptação de serotonina, além de inibir a MAO. As MAOs endógenas, encontram-se na membrana externa das mitocôndrias, localização que protege as monoaminas endógenas contra sua ação oxidativa, mantendo os respectivos teores teciduais de neurotransmissores dentro dos limites fisiológicos. Por esta razão, a administração de inibidores de MAO (IMAO) acarreta aumento de depósito de aminas no cérebro, principalmente serotonina, dopamina e noradrenalina.

A folha *Psychotria viridis*, da família *Rubiaceae*, conhecida como chacrona ou rainha, contém o alcalóide indólico N, N-dimetiltriptamina (DMT), substância de estrutura molecular semelhante ao neurotransmissor serotonina (5-HT). O DMT é um composto endógeno amplamente encontrado na natureza e estudado há mais de 50 anos. No entanto, as pesquisas realizadas até o momento têm se mostrado insuficientes para fornecer uma descrição neurobiológica clara e abrangente sobre o papel deste e outros alucinógenos endógenos. Sabemos que ele é metabolizado pela MAO, apresentando

ação agonista sobre os receptores de serotonina, principalmente do subtipo 5-HT₂, (SMITH *et al.*, 1998; GRELLA *et al.*, 2003).

O DMT, em seu estado purificado, é uma substância de uso proscrito e classificada nos termos da Convenção sobre Substâncias Psicotrópicas de 1971 (UN, 1971). Quando administrado por via oral, sofre ação da enzima MAO intestinal e hepática, sendo desaminado e degradado em metabólitos inativos, consequentemente, inativado, impossibilitando seu acesso ao sistema circulatório (HOLMSTED & LINDGREN, 1967; MCKENNA & TOWERS, 1984). Porém, quando ingerido juntamente com as β -carbolinas, combinação existente na ayahuasca, o DMT não sofre inativação pela MAO, consequentemente permitindo o acesso do DMT ao sistema circulatório, atravessando a barreira hematoencefálica (NIZNANSKY *et al.*, 2022) e exercendo seus efeitos no sistema nervoso central com sua chegada aos receptores serotoninérgicos (CALLAWAY *et al.*, 1999). O resultado é uma cascata de efeitos neuroquímicos que alteraram os padrões normais de percepção, sobre aquilo que comumente compreendemos como sendo “realidade” (DE SOUZA, 2011). Após o consumo da ayahuasca, o DMT e as β -carbolinas, são lentamente metabolizados e excretados na urina.

Os efeitos neuroquímicos observados por usuários do chá de ayahuasca incluem palidez, sudorese, midríase, salivação, náuseas, vômitos, diarreia, hipertensão, palpitação, taquicardia, tremores, excitação e alteração na temperatura corpórea (SHANON, 2003, RIBA *et al.*; 2001). Também são relatados ansiedade, delírios parecidos com sonhos, exacerbação emocional, sensação de vigilância e estimulação, alterações no processo de pensamento, concentração, atenção, memória e julgamento, humor, alteração da percepção da passagem do tempo, mudanças na percepção corporal, alterações na expressão emocional, mudanças no significado de experiências anteriores (“*insights*”), sentimentos de rejuvenescimento, sensação da “alma se desprendendo do corpo”, sensação do contato com locais e seres sobrenaturais e alterações perceptuais atingindo vários sentidos, onde alucinações e sinestésias são comuns, em alguns casos perda de memória, confusão mental e desorientação (SCHULTES & HOFMANN, 1992; SCHVARTSMAN, 1992; CAZENAVE, 1996; CALLAWAY, 1999; RIBA *et al.*; 2001; SHANON, 2003; SANTOS, 2004; COSTA *et al.*, 2005; VINHA, 2005; PIRES *et al.*, 2010; DE SOUZA, 2010).

Os efeitos somáticos do chá de ayahuasca aparecem entre 15 e 30 minutos, os psicológicos entre 30 e 60 minutos, ambos atingindo o pico entre 60 e 120 minutos e

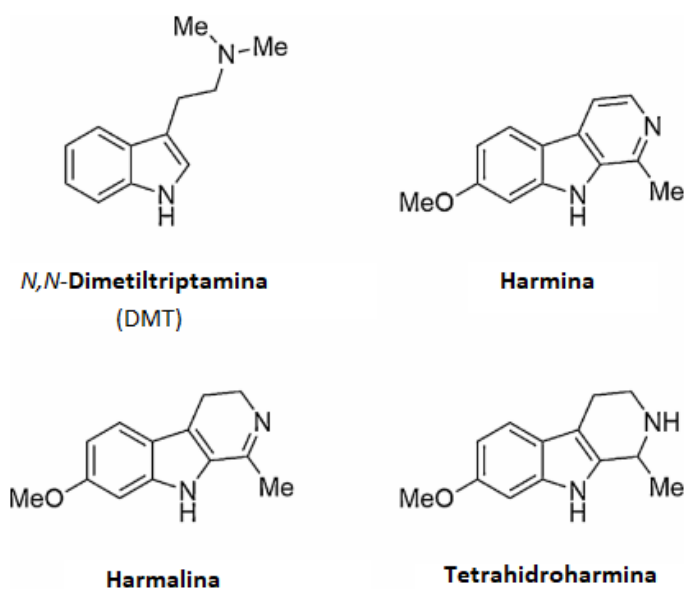
com duração de 4 a 6 horas, após a ingestão, (RIBA *et al.*; 2001, 2003). Vale destacar que os efeitos somáticos e psíquicos estão diretamente relacionados à pré-disposição fisiológica do indivíduo, dosagem e composição do chá (alcalóides e DMT). Segundo DE SOUZA (2011), o nível de estruturação sócio-familiar, o contexto no qual este indivíduo teve a experiência, a história pessoal e o grau de vulnerabilidade física e emocional de cada indivíduo são elementos importantes durante as alterações de consciência causadas pelas substâncias psicoativas.

Torna-se claro que os alucinógenos naturais ou sintéticos, possuem capacidade única e poderosa de alterar a mente humana e que estudos controlados, pré-clínicos e clínicos são necessários para compreender a ação e utilização destas substâncias na sociedade moderna, principalmente no que diz respeito a seu potencial efeito terapêutico.

2.3 - Mecanismos de ação das substâncias presentes no chá de ayahuasca

O cipó *Banisteriopsis caapi*, da família *Malpighiaceae*, conhecido como mariri, nativo da Amazônia e dos Andes contém os alcalóides β -carbólicos harmina (HRM), harmalina (HRL) e tetrahydro-harmalina (THH) (Figura 2).

Figura 2: Estruturas químicas.



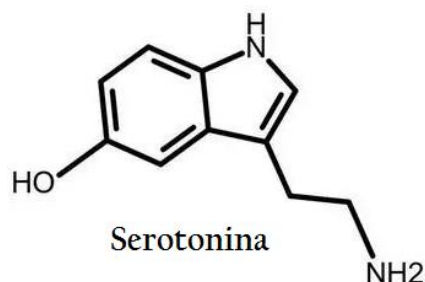


Figura 2: Estruturas químicas: harmina, harmalina, tetrahydroharmalina, DMT e serotonina.

Fonte: Adaptada do livro: ciências da vida, 2022.

A harmina e a harmalina possuem a capacidade de inibir reversivelmente a flavoenzima monoamino oxidase (MAO) que possui 2 isoformas MAO-A e MAO-B, e desamina preferencialmente, a noradrenalina e a serotonina, mas também a dopamina. A tetrahydro-harmalina tem a capacidade de inibir a recaptação de serotonina, além de inibir a MAO. A concentração desses alcalóides no chá de ayahuasca varia de 0,05% a 1,95% de peso seco (MCKENNA *et al.*, 1984; MCKENNA, 2004).

A ação conjunta destes mecanismos eleva os níveis de noradrenalina, serotonina e de dopamina na fenda sináptica (CAZENAVE, 2000; CALLAWAY *et al.*, 1999, MCKENNA *et al.*, 1998; LUNA, 2005). Segundo BRITO (2004), as quantidades de β -carbolinas presentes em uma dose usual de ayahuasca estão abaixo do limiar de sua atividade alucinógena, que são de 300 a 500 mg para HRL e THH e de 100 mg para HRM, e por outro lado, estão acima do limiar para atividade como inibidora da MAO.

A planta *Psycotria viridis*, da família *Rubiaceae*, conhecida como chacrona, contém o alcalóide indólico N, N-dimetiltriptamina (DMT) (Figura 2), substância de estrutura molecular semelhante ao neurotransmissor serotonina (5-HT) (Figura 2). O DMT é um composto endógeno também metabolizado pelo MAO, potente alucinógeno, apresentando ação agonista sobre os receptores de serotonina, principalmente do subtipo 5-HT₂ (GRELLA *et al.*, 2003; SMITH *et al.*, 1998), além de atuar sobre receptores *sigma-1* (FONTANILLA *et al.*, 2009). A ingestão de DMT, também metabolizado pela MAO, geralmente altera a percepção da realidade com novas imagens mentais complexas (HOLMSTED & LINDGREN, 1967; MCKENNA & TOWERS, 1984; MCKENNA *et al.*, 1984, 1990; DELIGANIS *et al.*, 1991; STRASSMAN *et al.*, 1994). A concentração desse alcalóide no chá de ayahuasca varia de 0,1% a 0,66% de peso seco (MCKENNA *et al.*, 1984; MCKENNA, 2004).

O DMT, quando administrado pela via pulmonar (fumada) ou pela via intravenosa em humanos, foi capaz de produzir efeitos alucinógenos, quase imediatos (OLIVEIRA *et al.*, 2010). Quando administrado por via oral, o DMT sofre ação da enzima MAO intestinal e hepática, sendo desaminado e degradado em metabólitos inativos, consequentemente, inativado, impossibilitando seu acesso ao sistema circulatório. Na ayahuasca, o DMT não sofre inativação pela MAO, pois está sendo ingerido juntamente com as β -carbolinas, que inibem a ação da enzima MAO. O acesso do DMT ao sistema circulatório e ao sistema nervoso central é então permitido o que leva a sua chegada aos receptores serotoninérgicos (CALLAWAY *et al.*, 1999). O resultado é uma cascata de efeitos neuroquímicos que irão alterar os padrões normais da percepção, sobre aquilo que comumente é compreendido como sendo “realidade” (DE SOUZA, 2011).

Portanto, torna-se claro que a interação sinérgica do DMT e β -carbolinas presentes no chá de ayahuasca permitem que as propriedades psicoativas da infusão se manifestem, assim como, sua efetiva ação farmacológica, visto que, a bebida proporciona um aumento nas concentrações de serotonina e torna o DMT disponível por via oral (CALLAWAY & GROB, 1998). Foi demonstrado que os componentes da ayahuasca interferem nos níveis cerebrais monoaminérgicos e aminoacidérgicos, neurotransmissores, incluindo GABA. Como alguns inibidores seletivos de recaptação de serotonina, antipsicóticos e outros psicotrópicos são metabolizados pelo CYP2D6 que também metaboliza harmina e harmalina, o uso concomitante dessas substâncias pode ser nocivo e deve ser evitado (CALLAWAY *et al.*, 1999).

Embora não se tenha relatos de mortes por intoxicação de β -carbolinas CALLAWAY *et al.*, (1996) destaca que, como são potentes inibidores da MAO, podem causar reações adversas quando combinados com medicamentos, que possuem tempo de meia-vida longo, incluindo os inibidores seletivos de recaptação de serotonina (ISRS). O bloqueio da MAO juntamente com o decréscimo de recaptação pelos ISRS pode levar a síndrome serotoninérgica. Sendo assim, com o aumento do uso de medicamentos ISRS e o crescente interesse no chá de ayahuasca o risco de toxicidade aumentou nos últimos anos.

SÁNCHEZ & BOUSO (2015) publicaram em sua revisão abordando critérios de segurança no consumo da ayahuasca, incluindo contraindicações em casos de problemas cardiovasculares graves, glaucoma, descolamento da retina, hipertensão grave, fraturas, cirurgias recentes, doenças infecciosas agudas, tuberculose, epilepsia, convulsões, acidentes cerebrovasculares, doenças graves do fígado, vesícula biliar, rins ou pâncreas,

peças que possuem dificuldade em vomitar, que sofrem de ataques de pânico, perturbações psiquiátricas graves, tais como bipolaridade, esquizofrenia, personalidade *borderline*, depressão grave, tentativas de suicídio ou automutilação. Na revisão, também não se recomenda o uso para mulheres grávidas ou lactantes.

2.4 - Serotonina

A serotonina foi identificada pela primeira vez em 1935 pelo italiano Vittorio Erspamer (VEDOVATO *et al.*, 2014). Mas foi apenas em 1948, que um grupo de cientistas estadunidenses isolaram a substância primeira vez (VEDOVATO *et al.*, 2014). Em 1950 pesquisadores encontraram serotonina no cérebro de animais de laboratório. Foi notado que os medicamentos e cirurgias que modificavam as áreas de presença da serotonina no cérebro de animais alteravam profundamente o comportamento sexual e agressivo, como também o sono, o estado de alerta e diversas funções biológicas básicas. A presença e função da serotonina nos cérebros e nos comportamentos dos animais consagraram o papel da serotonina como o primeiro neurotransmissor conhecido (STRASSAM, 2019).

A serotonina ou 5-hidroxitriptamina (5-HT) é o principal neurotransmissor envolvido com o mecanismo de ação da ayahuasca. É um neurotransmissor sintetizado a partir do aminoácido L-triptofano (obtido na dieta) pela ação da enzima triptofano-5-hidroxilase é convertido em 5-hidroxi-triptofano (5-HTP). O 5-HTP é convertido pela enzima L-aminoácido aromático descarboxilase em serotonina (figura 3).

Figura 3: Biossíntese da serotonina.

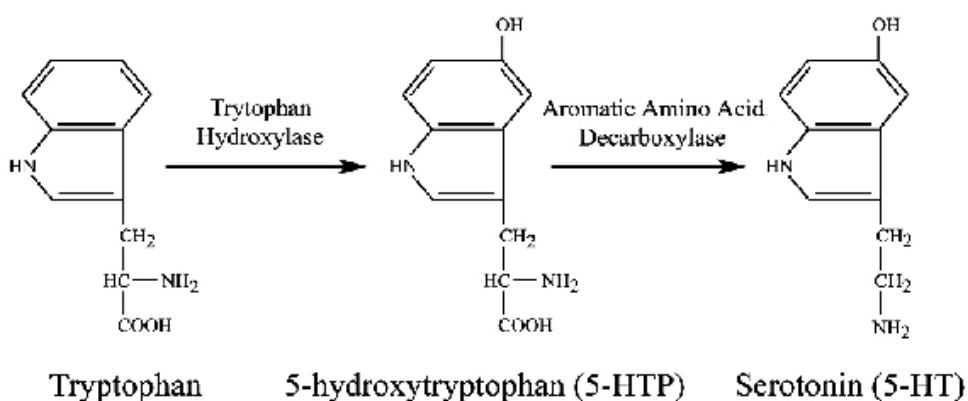


Figura 3: Biossíntese da serotonina.

Fonte: SETHI & CHATURVEDI, 2016

Ela pode ser encontrada em vários alimentos, incluindo queijos, carnes, frutas e legumes. Apesar de estar presente nesses alimentos, a serotonina não é facilmente acessível ao sistema nervoso central, por sua característica hidrofílica, não é capaz de atravessar a barreira hematoencefálica (BHE). No entanto, o triptofano, bem como a vitamina B6 (importante na síntese de 5-HT), atravessa a BHE para ser utilizado na síntese deste neurotransmissor (FRIEDMAN & CUQ, 1988; HULSKEN *et al.*, 2013; SHABBIR *et al.*, 2013).

A disponibilidade de triptofano é fator limitante da velocidade na síntese. O triptofano é transportado do sangue para o cérebro por um sistema carreador, recolhido pelos terminais dos nervos serotoninérgicos e convertido pela triptofano-hidroxilase a 5-hidroxitriptofano (5-HTP), um intermediário de vida curta. 5-HTP é então rapidamente convertido em 5-HT por ação da descarboxilase ácida L-aromático relativamente inespecífica (OWENS & NEMEROFF, 1994) (figura 3). O triptofano-hidroxilase é ativado por fosforilação e catalisado por uma proteína quinase, que é ativada por cálcio. O influxo de cálcio durante o disparo neuronal garante que a síntese de serotonina seja disponível para a atividade neuronal (TRICKLEBANK & DALY, 2019).

Mais de 90% da serotonina do organismo é encontrada nas células enterocromafins do trato gastrointestinal (TGI). Os neurônios serotoninérgicos do sistema nervoso central localizam-se predominantemente nos núcleos medianos da rafe, desde o tronco cerebral até a medula, são esses que sintetizam, armazenam e liberam a serotonina como neurotransmissor (KATZUNG, 1998).

O neurotransmissor serotonina é um mediador de uma ampla variedade de funções fisiológicas e interage com múltiplos receptores. Estes receptores desempenham um importante papel em condições patológicas e psicopatológicas (GLENNON *et al.*, 2000). Nos últimos 16 anos, sete famílias distintas de receptores de 5-HT foram identificadas (5-HT₁, 5-HT₂, 5-HT₃, 5-HT₄, 5-HT₅, 5-HT₆ e 5-HT₇), com pelo menos 15 subpopulações destes receptores que já foram clonadas. Com exceção do receptor 5-HT₃, que pertence à família de receptores acoplados a canais iônicos seletivamente permeáveis a sódio (Na⁺), potássio (K⁺) e cálcio (Ca⁺⁺), os demais receptores estão incluídos na superfamília de receptores acoplados a proteína G (metabotrópicos). Sua estimulação afeta várias enzimas efetoras incluindo adenilil-ciclase, fosfolipase A e C e canais de cátions, especialmente canais K⁺ e Ca⁺⁺, através da ativação de proteínas G específicas. Acredita-se que os receptores 5HT-_{2A} e 5HT-_{1A} estão envolvidos com a

ação central da ayahuasca (MCKENNA *et al.*, 1990; CARLINI, 2003; FANTEGROSSI *et al.*, 2008).

A 5-HT exerce efeito modulador geral da atividade psíquica, influenciando quase todas as funções cerebrais inibindo ou estimulando o sistema GABA. É desta forma que a serotonina regula o sono, humor, vômito, vigília, atividade sexual, apetite, ritmo circadiano, temperatura corporal, sensibilidade à dor, regulação da pressão arterial, atividade motora, cognição entre outros (HULSKEN *et al.*, 2013; SHABBIR *et al.*, 2013). A nível periférico está relacionada com o tônus muscular, vasodilatação, agregação placentária e inflamação. Pode estar envolvida ainda, com condições patológicas, tais como depressão, ansiedade, pânico e enxaqueca (KATZUNG, 1998).

Os psicodélicos clássicos compreendem três classes químicas principais: (1) triptaminas de origem vegetal ou animal; (2) derivados da ergolina e (3) fenetilaminas como mescalina. Todos os psicodélicos têm afinidade com os receptores 5-HT₂, mas também interagem de várias formas com os receptores 5-HT₁, HT₄, HT₅, HT₆ e HT₇, portanto, é difícil destacar um subtipo específico responsável por todos os efeitos psicodélicos.

Devido à similaridade estrutural do DMT com o neurotransmissor endógeno serotonina ocorre uma interação na neurotransmissão serotoninérgica. O DMT mostra atividade agonista nos locais dos receptores 5-HT_{2A}, 5-HT₁ e 5-HT₂ (GONZALEZ-MAESO & SEALFON, 2009). A interação entre psicodélicos e o receptor 5-HT₂ aumenta o disparo neural através de potenciais e correntes pós-sinápticos excitatórios. A estimulação do 5-HT₂ pode ter implicações mais duradouras, além das alterações eletrofisiológicas mais imediatas, baseado em estudo de bloqueio esse seria o candidato mais forte pra os efeitos psicodélico (TRICKLEBANK & DALY, 2019). Vários estudos demonstraram que os psicodélicos antagonistas do 5-HT₂ estimulam a expressão de genes específicos (GONZALEZ-MAESO *et al.*, 2007; DOMÍNGUEZ-CLAVÉ *et al.*, 2016). Esses genes codificam fatores de transcrição, como *c-fos* e também aumentam a expressão do fator neurotrófico derivado do cérebro. Esses fatores de transcrição estão envolvidos na plasticidade sináptica e foram associados a vários aspectos da cognição, como memória e atenção (DOMÍNGUEZ-CLAVÉ *et al.*, 2016).

A diminuição de serotonina está associada a uma variedade de distúrbios funcionais, comportamentais e doenças neurodegenerativas, variando do alcoolismo a

depressão, autismo, esquizofrenia, déficit de atenção, hiperatividade e doenças senis (YOUNG & LEYTON, 2002; BERGER *et al.* 2009; COWEN & SHERWOOD, 2013). O uso regular e em longo prazo do chá de ayahuasca resulta na modulação da serotonina. Os transportadores de 5-HT são significativamente elevados nesses usuários, sendo assim, existe a especulação que o uso da infusão possa reverter os déficits de serotonina e assim controlar essas doenças além de promover positivas mudanças comportamentais (MCKENNA, 2004).

A hipótese que a redução dos níveis serotoninérgicos está diretamente envolvida na depressão tem mais de 50 anos. A ideia foi parcialmente baseada na descoberta de que os antidepressivos tricíclicos inibiam recaptação de 5-HT e noradrenalina e, portanto, aumentado à atividade em indivíduos deprimidos. A chegada dos inibidores seletivos de recaptação de serotonina (ISRS) enfatizou ainda mais que a função serotoninérgica aumentada possa ser suficiente para melhorar os sintomas depressivos nesses indivíduos afetados (TRICKLEBANK & DALY, 2019).

A melhor evidência de que a serotonina desempenha um papel na depressão vem de estudos de depleção de triptofano, onde uma dieta com restrição de triptofano leva a uma diminuição do plasma e do cérebro de triptofano e, portanto, uma diminuição da função serotoninérgica. Assim, foi demonstrado que a depleção do triptofano em voluntários saudáveis não induziu mudanças clinicamente significativas no humor. Em pacientes deprimidos recuperados (livres de medicação), a depleção do triptofano produziu um retorno significativo da sintomatologia depressiva, assim, em algumas circunstâncias, atividade serotoninérgica reduzida pode resultar em depressão (TRICKLEBANK & DALY, 2019).

As investigações sobre serotonina percorreram um longo caminho desde sua identificação, no intestino de mamíferos, até pesquisas intrigantes que envolvem a serotonina neuronal e plaquetária. Sem ainda ser capaz de identificar os mecanismos exatos, é claramente um neurotransmissor com profundas implicações para a saúde mental e bem-estar.

2.5 – Psicoativos naturais - em especial o dimetiltriptamina (DMT)

A história do uso de plantas, cogumelos e animais pelos seres humanos em razão de seus efeitos psicodélicos, espirituais e medicinais é bem mais antiga do que a história

escrita e é provavelmente anterior ao surgimento da espécie humana moderna. As culturas indígenas fazem uso dos psicoativos há milênios (DA COSTA *et al.*, 2020).

Os povos originários do Novo Mundo utilizaram e continuam a utilizar um amplo conjunto de plantas e cogumelos alteradores da consciência. A maioria dos conhecimentos que temos hoje a respeito dos psicodélicos é resultado de pesquisas sobre compostos químicos encontrados primeiramente em materiais do hemisfério ocidental: o DMT, a psilocibina, a mescalina e diversos compostos próximos do LSD, (STRASSAM, 2019). A profundidade e a amplitude da utilização de plantas psicodélicas pelos habitantes do Novo Mundo surpreenderam e alarmaram os colonizadores europeus, esta reação pode ter sido consequência da relativa ausência de plantas e cogumelos psicodélicos na Europa.

Os psicodélicos foram classificados pelas agências reguladoras, por muito tempo, como drogas perigosas, porém, frequentemente, não possuem efeitos tóxicos graves, a psicoatividade, em mamíferos, geralmente ocorre em doses baixas que são insuficientes para produzir toxicidade (NICHOLS, 2004). Além disso, não geram dependência e não são consideradas substâncias reforçadoras, em contraste com as drogas de abuso (NICHOLS, 2004; NIZNANSKY *et al.*, 2022).

O DMT é um composto natural encontrado em várias espécies de plantas e preparações botânicas, é um alcaloide indólico simples da classe química das triptaminas com estrutura muito próxima a serotonina (MCKENNA *et al.*, 1984; STRASSMAN, 2001; CALLAWAY, 2005; NICHOLS, 2016).

O DMT foi sintetizado em 1931 por Manske, mas não foi avaliado quanto aos efeitos farmacológicos humanos. Em 1946 o brasileiro, Oswaldo Gonçalves de Lima, isolou DMT das raízes da *Mimosa tenuiflora*, porém sem conhecimento, o nomeou de nigerina (DOMÍNGUEZ-CHAVÉ *et al.*, 2016). Seu efeito alucinógeno foi comprovado em 1956 por Stephen Szára, que extraiu DMT da planta *Mimosa hostilis* e administrou o extrato a si mesmo por via intramuscular e descobriu poderosos efeitos visionários. Continuou administrando DMT em humanos, via parenteral, e com 30 mg descobriu que os efeitos fisiológicos eram diversos além de ilusões visuais (DOMÍNGUEZ-CHAVÉ *et al.*, 2016). O DMT foi o primeiro psicodélico endógeno humano descoberto (METZNER, 2006) com diferentes papéis fisiológicos, incluindo sinalização neural e ações imunológicas cerebrais/periféricas (MORALES-GARCIA *et al.*, 2020).

Estruturalmente, o aspecto mais marcante do DMT é sua simplicidade, é pequeno (peso molecular da base livre = 188,27 g/mol) e hidrofóbico (log P = 2,573)

características que permitem que ele atravesse facilmente a barreira hematoencefálica. É produzido em quantidades muito pequenas no corpo humano o sugere que pode ter um importante papel biológico conservado ao longo da evolução, ou que é um remanescente de uma função biológica que caiu em desuso (RODRIGUES *et al.*, 2019).

Em 1955, BUMPUS & PAGE examinaram amostras de urina de humanos onde foram encontradas substâncias com propriedades farmacológicas semelhantes à serotonina, 5-hidro-N.N-DMT (HDMT, bufotenina). Na sequência Axelrold, em 1961 relatou a presença de uma enzima capaz de N-metilar indol-etilaminas e assim produzir DMT. Após esses relatos, houve uma concentração em estudos que indicassem a possibilidade de formação endógena de psicodélicos indol-etilamínicos. Durante os próximos 50 anos muitos estudos relataram encontrar DMT, HDMT, MDMT em urina e/ou sangue humanos (BARKER, 2011). Muitos desses estudos buscavam estabelecer uma relação entre os níveis dessas substâncias e doenças mentais, porém sem consenso.

A esquizofrenia é um bom exemplo, pois, em sua concepção original era causada pela existência de uma esquizotoxina psicodélica endógena que estava presente em pacientes e ausentes em indivíduos “normais”, no entanto, vários estudos subsequentes relataram encontrar esses compostos (DMT) em indivíduos sem a patologia. Apesar de muitos estudos nesse sentido, ainda não existe uma resposta definitiva sobre a existência ou não de relação entre níveis desses compostos na urina ou sangue com qualquer diagnóstico psiquiátrico (BARKER, 2011).

O DMT, endógeno ou sintético, é um agonista da serotonina, simulando o efeito desse neurotransmissor. Os receptores de serotonina nos subtipos 5-HT₁ e 5-HT₂ são acoplados a proteína G, pertencentes à família de receptores serotoninérgicos, e envolvidos em inúmeras cascatas de sinalizações intracelulares, com alta expressão em várias regiões do SNC (MORALES-GARCIA *et al.*, 2020). Alguns estudos demonstraram que o DMT também se liga com baixa afinidade a receptores não serotoninérgicos, como o receptor *sigma-1*.

O receptor *sigma-1*, inicialmente considerado um subtipo de receptor opioide, é agora classificado como uma proteína transmembrana altamente conservada e localizado principalmente na membrana do retículo endoplasmático. São receptores intracelulares que atuam como proteínas chaperonas e modulam a sinalização de Ca²⁺ através do receptor IP3 (inositol 1,4,5-trifosfato).

O DMT liga-se aos receptores *sigma-1* e pode exercer dois tipos de efeitos: em baixas concentrações, regula o fluxo de cálcio do retículo endoplasmático para as

mitocôndrias, enquanto que em concentrações mais altas exerce diversos efeitos na região da membrana plasmática. O efeito no influxo de cálcio nas mitocôndrias pode ser extremamente importante para o tratamento do câncer, uma vez que um desequilíbrio energético entre a glicólise aeróbica citosólica (excessiva) e a fosforilação oxidativa mitocondrial (reduzida), conhecido como efeito *Warburg*, foi recentemente sugerido como marca do câncer (SCHENBERG, 2013).

Este receptor tem sido associado a várias funções celulares, amplamente difundido no SNC (principalmente no córtex pré-frontal, hipocampo e estriado), transporte de lipídios, regulação do metabolismo, apoptose, diferenciação celular, sinalização (em resposta ao estresse), proteção celular contra agentes oxidantes, mielinização e, mais recentemente, neurogênese (RODRIGUES *et al.*, 2019). SZABO (2015) estabeleceu que o receptor *sigma-1* também é expresso em células imunes, isso porque se ligam aos esteróides, então, é possível, que sirva como uma ligação entre os sistemas endócrino, nervoso e imunológico. Também são úteis em vários campos terapêuticos, por exemplo, depressão e ansiedade, processos de aprendizagem e memória, no tratamento de comprometimento cognitivo na esquizofrenia e depressão psicótica (NIITSU *et al.*, 2012). SZABO (2015) identificou mecanismos pelos quais psicodélicos clássicos, como o DMT, podem exercer efeitos anticâncer e anti-inflamatórios por meio da modulação de processos imunológicos inatos e adaptativos.

O DMT é sintetizado por descarboxilação dos componentes essenciais do aminoácido triptofano processo catalisado pela enzima aminoácido aromático descarboxilase (AADC) formando a triptamina (figura 4). A triptamina é então monometilada pela enzima indoletilamina-N-metiltransferase (INMT), que catalisa a adição do grupo metil proveniente de S-adenosil-metionina (SAM), essa reação se repete e outro grupo metil é introduzido a N-metilriptamina (NMT) gerando o DMT. A enzima INMT é amplamente expressa no corpo, principalmente nos órgãos periféricos, tecidos como pulmões, tireóide e glândula adrenal, também está localizada na retina, coração, músculo esquelético, intestino delgado, estômago, pâncreas, linfonodos e placenta. No do cérebro humano, a maior atividade desta enzima foi encontrada em uncus, medula, amígdala, córtex frontal, fronto-parietais e lobos temporais. Destaca-se que existem outros substratos para INMT, sendo assim, sua expressão não reflete necessariamente o local de síntese de DMT (RODRIGUES *et al.*, 2019).

Figura 4: Biossíntese do DMT.

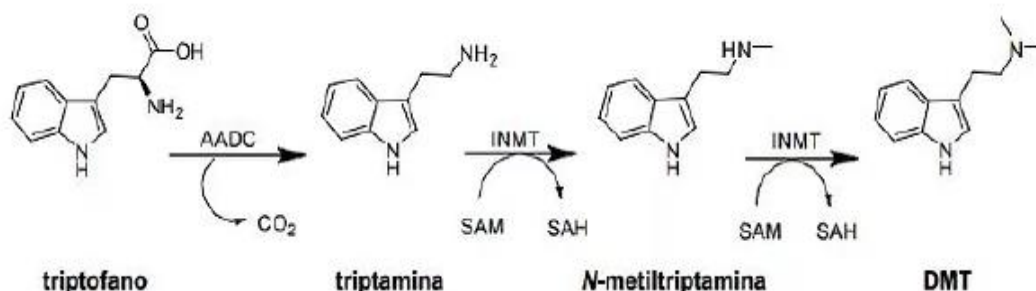


Figura 4: Processo da biossíntese do DMT a partir do aminoácido triptofano.

Fonte: JACOB & PRESTI, 2005.

Atualmente não há consenso no meio científico sobre a atuação do DMT endógeno no organismo humano, bem como não se sabe ao certo onde seja produzido. STRASSMAN (2001) propôs que o DMT seja sintetizado pela glândula pineal, produzido em maiores quantidades, em momentos específicos da cronologia evolutiva humana.

2.6 – Alcalóides β -carbolínicos

Os alcalóides são compostos de grande interesse para a comunidade científica devido a seus efeitos tóxicos, farmacológicos e medicinais. São encontrados em representantes de todos os grupos vegetais. São produtos de detoxificação de substâncias nocivas geradas pelo metabolismo primário vegetal e fonte de reserva de nitrogênio (CALLAWAY & BRITO, 2005; CAI & XING, 1998). Acredita-se que estes compostos possuam a função de hormônios reguladores do crescimento e que, provavelmente, sejam os responsáveis pela defesa da planta contra microrganismos (CALLAWAY & BRITO, 2005; CAI & XING, 1998).

PELLETIER (1984) resumiu as propriedades de um alcalóide como: "Composto alicíclico contendo nitrogênio em um estado de oxidação negativo com distribuição limitada entre organismos vivos". Os alcalóides são ricos em informações farmacológicas, aproximadamente 25% dos medicamentos usados hoje são alcalóides de origem vegetal, e são administrados puros ou como extratos (CORDELL, 2000; NEWMAN & CRAGG, 2016).

Os alcalóides são formados, na sua grande maioria, a partir de aminoácidos em especial: ácido α -aspartático (piridinas e isoquinoleínas), α -lisina (piperidinas e quinolizidinas), α -tirosina (isoquinolinas, benzilisoquinolinas e betalainas) α -triptofano

(derivados da triptamina, β -carbolinas, indóis complexos), α -histidina (imidazóis) além de outros precursores da biossíntese como: ácido mevalônico, ácido antranílico, terpenos e esteróides (MOURA, 2006).

As β -carbolinas são alcalóides indólicos que apresentam um núcleo indólico, um anel piridínico hydrogenado e seis membros (figura 5). Com diferentes graus de aromaticidade são encontrados principalmente em plantas das famílias Malpighiaceae (presentes no chá de ayahuasca), Zygophyllaceae, Passifloraceae, Leguminosae, Myrasticaceae e Eleganceae (MOURA, 2006), criaturas marinhas, insetos, mamíferos, bem como tecidos humanos e fluidos corporais (CAO *et al.*, 2004).

Figura 5: Estruturas presentes nos alcalóides β -carbólicos.

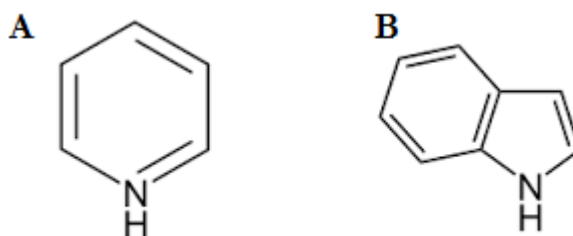


Figura 5: Estruturas presentes nos alcalóides β -carbólicos. A- anel piridínico, B- estrutura do núcleo indólico. **Fonte:** Adaptado de KUMAR *et al.*, 2017.

Esses alcalóides são conhecidos como alcalóides do harmala, pois os primeiros a serem descobertos foram a harmina ou metoxiharmano e a harmalina ou tetra-hidro-harmina a partir das sementes de *Peganum harmala*, (ALLEN & HOLMSTEDT, 1980). A *Peganum harmala* é nativa do Norte da África e do Oriente Médio, muito resistente à seca, com flores brancas, folhas pontiagudas e sementes que exibem fluorescência amarela na água.

A via metabólica que leva a formação endógena das β -carbolinas em mamíferos é a Pictet-Spengler. Nesta reação um componente carbonil (formaldeído ou acetaldeído) é condensado com uma indolamina (triptamina, 5-hidrotriptamina, 5-metoxitriptamina, N-metiltriptamina, etc.), a partir desta condensação forma-se o 1-metila-1carbóxi-tetraidro- β -carbolina que é metabolizado por meio do anel hidroxilado, descarboxilado, metilado e desidrogenado formando os compostos da família β -carbolinas (ALLEN & HOLMSTEDT, 1980). β -carbolinas estruturalmente relacionadas à alcalóides harmala também foram encontrados endogenamente nos tecidos de mamíferos, incluindo o sistema nervoso central, fígado, plaquetas, no plasma e na urina.

As β -carbolinas são compostos de grande interesse devido ao seu amplo espectro de ações farmacológicas e biológicas. Elas atuam como intercalantes de DNA, modulam o sistema nervoso central por meio da inibição da enzima MAO e interagem com diversos receptores, incluindo 5-HT e receptores de benzodiazepinas. Esses compostos exibem atividades convulsivas ou anticonvulsivas, propriedades ansiolíticas, efeitos antivirais, antiparasitários e antimicrobianos, além de inibirem cinases dependentes de ciclina e topoisomerasas (TSE *et al.*, 1991; CAO *et al.*, 2004). "Estudos incluem *Peganum harmala* como antiespasmódico, antipirético, anticancerígeno, inibidor da agregação plaquetária, imunomoduladores, hipotensores e redutores sistêmico da pressão arterial (BERROUGUI *et al.* 2006).

2.7- Câncer

2.7.1- O câncer ao longo do tempo

A palavra câncer vem do grego *karkínos*, que quer dizer caranguejo, e foi utilizada pela primeira vez por Hipócrates, o pai da medicina, que viveu entre 460 e 377 a.C. (INCA, 2011). Ele descreveu um tumor com vasos sanguíneos inchados à sua volta, que fez o médico lembrar-se de um caranguejo enterrado na areia, com as patas abertas.

Antes do século XX existiam muitas doenças que matavam a população, como tuberculose, cólera, pneumonia, sendo assim, o câncer não era uma preocupação da época. O câncer de pulmão, doença rara no início do século XX, tornou-se a neoplasia mais letal em todo o mundo. Essa mudança se iniciou na segunda década do século, quando se observou que os números de casos vinham aumentando em todo o mundo.

O cirurgião inglês Percivall Pott reconheceu em 1775 uma relação causal entre a exposição de substâncias do ambiente e o desenvolvimento de câncer, ele descreveu a ocorrência de câncer na pele do escroto de limpadores de chaminés em Londres que foram relacionadas ao contato contínuo com a fuligem (OLIVEIRA *et al.*, 2007). Ainda no século XVIII John Hill estabeleceu uma relação entre os cânceres de mucosa nasal de seus pacientes com a fumaça do tabaco. Em 1890, na Europa, houve uma alta incidência de câncer nos trabalhadores da indústria química de borracha (OLIVEIRA *et al.*, 2007).

No final do século XIX ficou extremamente claro que a exposição a certos produtos químicos teria efeitos cancerígenos, sendo assim, seria necessário reproduzir esse ambiente em laboratório e o primeiro trabalho experimental sobre carcinogênese foi em 1915 pelos patologistas Katsusaburo Yamagiwa e Koichi Ichikawa que expuseram as

orelhas de coelhos ao carvão e observaram o aparecimento de carcinomas. Outros pesquisadores iniciaram estudos em outros órgãos (bexiga, pulmão, fígado, pâncreas, rins) em animais de laboratório e os resultados impulsionaram o uso experimental de animais e o desenvolvimento de câncer (OLIVEIRA *et al.*, 2007).

O ano de 1971 ficou conhecido como o da “declaração da guerra contra o câncer”. Em cada grupo de 100 mil pessoas nos Estados Unidos, 163 morriam de câncer. Depois de mais de 30 anos de “guerra”, a taxa ao invés de cair, subiu (GUIMARÃES e ROSA, 2008).

O câncer é a principal causa de morte e uma importante barreira para o aumento da expectativa de vida em todos os países do mundo, está entre as quatro principais causas de morte prematura (antes dos 70 anos de idade) na maioria dos países (SUNG *et al.*, 2021). As razões para o desenvolvimento da doença são complexas, incluem o envelhecimento e crescimento populacional, mudanças na prevalência e distribuição dos principais fatores de risco, muitos dos quais estão associados ao desenvolvimento socioeconômico e declínios acentuados nas taxas de mortalidade por acidente vascular cerebral e doença coronariana em muitos países (BRAY *et al.*, 2018).

De acordo com relatório sobre câncer da *World Health Organization* (WHO) publicado em 2020 quando comparamos os países de acordo com Índice de Desenvolvimento Humano (IDH), nota-se uma desigualdade em relação à letalidade e incidência de câncer. Países em que o IDH é baixo, as taxas de incidência são geralmente de 2 a 3 vezes maior do que em países com IDH mais altos. Também se observa uma maior letalidade, associado, em parte, a dificuldades no acesso ao tratamento precoce (diagnósticos em estágios avançados) ou até falta de tratamento. Em países com alto IDH notou-se a redução de mortes prematuras de câncer (redução de 20% de 2000 a 2015) (WHO, 2020).

Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC) que é a agência especializada em câncer da Organização Mundial da Saúde (OMS), publicou em fevereiro de 2020 um relatório com a estimativa de incidência e mortalidade por câncer em todo mundo e as projeções para 2040, que foi intitulada como GLOBOCAN.

Estima-se que, globalmente, 1 em cada 5 pessoas desenvolverão câncer durante a vida e 1 em cada 8 homens e 1 em 11 mulheres morrerão da doença. O câncer de mama feminino ultrapassou o câncer de pulmão como o mais comumente diagnosticado (11,7% do total de casos), seguido por câncer de pulmão (11,4%), colorretal (10%), próstata (7,3%) e estômago (5,6%). A principal causa de morte por câncer continuou

sendo o câncer de pulmão (18% do total de mortes por câncer), seguido pelo câncer colorretal (9,4%), fígado (8,3%), estômago (8,3%) e câncer de mama feminino (6,9%) (GLOBOCAN 2020: <https://gco.iarc.fr/today/home> e <https://www.iarc.who.int/research-home>).

Por sexo, o câncer de pulmão é o câncer mais frequente e a principal causa de morte por câncer em homens, seguido por câncer de próstata e colorretal para incidência e câncer de fígado e estômago para mortalidade. Em relação à frequência de diagnóstico para os homens: o câncer de próstata seguido pelo câncer de pulmão, colorretal e fígado.

Entre as mulheres, o câncer mais comumente diagnosticado é o câncer de mama e o câncer de cervical que também são as principais causas de morte seguidas de câncer de pulmão. Em relação à mortalidade o câncer de mama representa 1 em cada 4 casos de câncer e 1 em cada 6 mortes por câncer, ocupando o primeiro lugar em incidência na grande maioria dos países (159 de 185 países) e mortalidade em 110 países.

No Brasil, SANTOS *et al.* (2023), realizaram estudo com metodologia análoga a aquela utilizada pela GLOBOCAN em que estimaram o grau de intensidade e distribuição dos principais tipos de câncer que ocorrerão no Brasil de 2023 a 2025. Segundo esse estudo, excluindo o câncer de pele não melanoma, a maior incidência de novos casos será em mulheres com 50,5% e homens com 49,5%. Por região o Sudeste concentra a maior parte dos casos seguidos por Nordeste, Região Sul, Centro-Oeste e Norte. Para as mulheres brasileiras o câncer de mama é o mais incidente seguido de câncer colorretal, colo de útero, traqueia, brônquio e pulmão e tireoide. Para os homens brasileiros o mais frequente câncer é o de próstata, seguido por colorretal, traqueia, brônquio e pulmão, estômago e cavidade oral. Em relação à mortalidade, o câncer de pulmão ocupará primeiro lugar em causa de morte, seguindo de mama e próstata. Em números de prevalência nos últimos 5 anos, temos 1.500.000 de pessoas vivendo com câncer no Brasil (SUNG *et al.*, 2021).

Como projeção para 2040, em todo o mundo, estima-se que 28,4 milhões de novos casos de câncer ocorram, um aumento de aproximadamente 45% em relação a 2020, assumindo que as taxas nacionais estimadas em 2020 permaneçam constantes. A magnitude relativa do aumento é mais notável nos países com IDH baixo (95%) e médio (64%). Em termos de carga absoluta, os países com IDH elevado deverão registrar o maior aumento na incidência, com mais 4,1 milhões de novos casos em 2040 em comparação com 2020. Esta projeção deve-se ao crescimento e envelhecimento da população, a mudança de comportamento e do ambiente, incluindo mudanças

estruturais, que têm impacto na mobilidade, na recreação, na dieta e na exposição a poluentes ambientais, que pode ser ainda mais exacerbada por uma prevalência crescente de fatores de risco em muitas partes do mundo (SUNG *et al.*, 2021).

Levando em consideração essas projeções, o câncer deve ser encarado como um problema de saúde pública. É preciso se preparar para o impacto desta doença nos diversos sistemas de saúde, com a implementação de políticas públicas fazendo investimentos estratégicos que priorizem áreas mais vulneráveis em relação à prevenção e tratamento da doença. É necessário um esforço mundial com adoção de medidas de prevenção, diagnóstico precoce e alocação de recurso para tratamento adequado, que ano após ano, assume maior complexidade e custo. É também responsabilidade global equalizar as diferenças que existem no acesso à saúde e nos desfechos desta doença entre as diversas regiões do mundo.

2.7.2- Crescimento celular e formação do câncer

O ciclo celular consiste, basicamente, na vida celular. Seu início se dá a partir da origem da célula e se finda quando esta célula se divide em células-filhas, englobando o processo de crescimento e desenvolvimento celular. Esse processo ocorre de maneira constante e natural. A maioria das células normais cresce, multiplica-se e morre de maneira ordenada, porém, as células cancerosas ou as neoplasias, em vez de morrerem, seu crescimento foge parcial ou totalmente ao controle do organismo, formando outras novas células anormais que tendem à autonomia e à perpetuação, com efeitos agressivos, sendo assim, a desregulação do ciclo celular é o início da proliferação celular aberrante, que levará à progressão do tumor (AHMAD *et al.*, 2020).

Entre os cerca de 25 mil genes existentes no genoma humano, apenas uma pequena quantidade é expressa em cada célula. Pressões ambientais causam o recrutamento de genes apropriados para lidar com cada situação: genes capazes de conduzir a célula à divisão celular ou genes capazes de conduzir a célula à morte. O equilíbrio divisão/morte celular depende da integridade de uma série de processos celulares, tais como: a transcrição de genes tecido-específicos, os mecanismos de reparo do DNA, a tradução de proteínas sem alterações estruturais graves e a relação da célula com um ambiente não-inóspito. O desequilíbrio entre proliferação e morte celular é o principal evento da carcinogênese. A vantagem proliferativa das células cancerosas é, na verdade, uma ruptura desse equilíbrio, um incremento da proliferação e uma redução da morte

celular, resultando em uma expansão enorme do número de células, (GUIMARÃES & ROSA, 2008).

Atualmente, câncer ou neoplasia é o nome geral dado a um conjunto de mais de 200 doenças que são caracterizadas por uma sequência de eventos anormais na fisiologia celular que levam principalmente a proliferação descontrolada e a imortalidade das células. O comportamento proliferativo de células cancerígenas é aberrante, no entanto, essas células criam maneiras de programar seu crescimento e divisão – o circuito-controle- quase idênticos ao das células normais (WEINBERG, 2008). Células cancerígenas descobrem formas de efetuar modificações relativamente minoritárias na maquinaria de controle que opera dentro das células.

Uma elaborada maquinaria de reparo celular dentro de cada célula continuamente monitora o genoma da célula, remove e elimina sequências mutantes, substituindo-as por sequências adequadas. Contudo, nenhum sistema de detecção de danos e reparos é infalível. Alguns erros na sequência genética escapam, estes se fixam no genoma da célula, são copiados em novas moléculas de DNA e transmitidos (WEINBERG, 2008).

O câncer surge a partir de uma mutação genética, ou seja, de uma alteração no DNA da célula, que passa a receber instruções erradas para as suas atividades. As células cancerosas frequentemente apresentam cromossomos com estruturas aberrantes de vários tipos: perda de cromossomos inteiros, presença de cópias extra de outros cromossomos e fusão de um cromossomo com parte de outro. Essas mudanças na configuração cromossômica, em geral, ampliam nossa concepção de como as mutações podem afetar o genoma (WEINBERG, 2008). O processo de formação do câncer é chamado de carcinogênese ou oncogênese, e, em geral, acontece lentamente, podendo levar vários anos para que uma célula cancerosa prolifere e dê origem a um tumor visível.

As mutações alteram o conteúdo da informação dos genes, os alelos mutantes de um gene podem ser passados do progenitor à descendência. Diz-se que essa transmissão de uma geração à seguinte, é possível graças às células germinativas. A transmissão de um alelo mutante recentemente criado em um organismo à sua descendência pode ocorrer somente se uma pré-condição for estabelecida: a mutação correspondente deve afetar um gene carregado no genoma de um espermatozoide ou ovócito ou no genoma de um dos tipos celulares que são precursores imediatos destas células. As mutações que afetam os genomas de células em todas as outras partes do corpo – mutações

somáticas – podem muito bem afetar as células específicas nas quais tais mutações ocorrem, mas não terão qualquer chance de transmissão à descendência dos organismos. As mutações somáticas são de importância vital para o processo de formação do câncer, já que, pode afetar o comportamento da célula em que ocorre e pode, por meio de repetidos ciclos de multiplicação e divisão celular, ser passada a todas as células descendentes dentro do tecido.

A descoberta de proto-oncogenes e oncogenes proporcionou uma explicação simples e poderosa de como a proliferação de células é dirigida. As alterações podem ocorrer em genes especiais, denominados proto-oncogenes (genes envolvidos no controle da proliferação celular), que a princípio são inativos em células normais. As proteínas codificadas por proto-oncogenes participam de várias maneiras do recebimento e processamento de sinais estimuladores de crescimento que surgem no ambiente extracelular. Quando esses genes sofrem mutações, o fluxo de sinais promotores de crescimento liberados por essas proteínas torna-se desregulado. Em vez de emití-lo em quantidades cuidadosamente controladas, as onco-proteínas liberam uma corrente de sinais estimuladores de crescimento, resultando na incessante proliferação associada às células cancerosas (WEINBERG, 2008). Os proto-oncogenes quando ativados tornam-se oncogenes, responsáveis por transformar as células normais em células cancerosas. As células cancerosas são, geralmente, menos especializadas nas suas funções que as suas correspondentes normais. Conforme as células cancerosas vão substituindo as normais, os tecidos invadidos vão perdendo suas funções.

Os mecanismos moleculares que resultam na ativação dos oncogenes nas neoplasias humanas são mudanças de origem multifatorial que podem envolver: mutação, amplificação gênica, rearranjos cromossômicos (GUIMARÃES & ROSA, 2008), agentes ambientais (cancerígenos ou infecções), alterações no desenvolvimento das vias, erros casuais na replicação do DNA, deficiências no sistema imunológico e outros fatores (WHO 2020).

Os oncogenes foram identificados inicialmente em vírus capazes de induzir tumores em animais ou de transformar células cultivadas *in vitro*. Estima-se que os vírus contribuam para o surgimento de aproximadamente 20% de todos os cânceres humanos, sendo que, em alguns tumores, como o câncer de cérvix uterina e hepatocarcinoma, eles são o principal agente causal (GUIMARÃES & ROSA, 2008).

O câncer não invasivo ou carcinoma *in situ* é o primeiro estágio em que o câncer pode ser classificado (essa classificação não se aplica aos cânceres do sistema sanguíneo). Nesse estágio (*in situ*), as células cancerosas estão somente na camada de tecido na qual se desenvolveram e ainda não se espalharam para outras camadas do órgão de origem. No câncer invasivo, as células cancerosas invadem outras camadas celulares do órgão, ganham a corrente sanguínea ou linfática e têm a capacidade de se disseminar para outras partes do corpo. Essa capacidade de invasão e disseminação que os tumores malignos apresentam de produzir outros tumores, em outras partes do corpo, a partir de um já existente, é a principal característica do câncer. Esses novos focos de doença são chamados de metástases (INCA, 2024).

A metástase é um processo complexo, e depende da habilidade das células cancerosas de invadirem tecidos adjacentes, entrarem para o sistema sanguíneo e para os vasos linfáticos, migrarem por tais vasos para locais anatomicamente distantes, deixarem os vasos e invadirem o tecido subjacente e encontrarem uma nova colônia de células tumorais em um local distante (WEINBERG, 2008).

A carcinogênese é dividida em 3 estágios: iniciação, promoção e progressão, ilustrado na figura 6.

Figura 6: Estágios da carcinogênese.

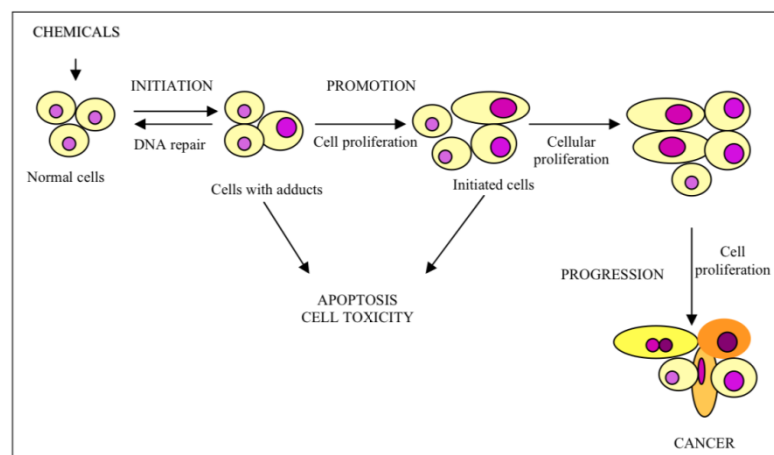


Figura 6: Estágios da carcinogênese.

Fonte: OLIVEIRA, *et al.*, 2007.

Resumidamente, o primeiro estágio (iniciação) é causado por mudanças genéticas irreversíveis que predisõem células normais suscetíveis à evolução maligna. A célula

nesse estágio não é neoplásica, mas deu seu primeiro passo em direção a esse estado, após muitas mudanças genotípicas e fenotípicas. Esse processo de iniciação garante que a divisão celular permaneça simétrica criando 2 novas células iniciadas. A expansão clonal de células iniciadas resulta de um processo mitogênico causado por aumento no número de células e inibição da apoptose, o que impede que as células iniciadas morram. A iniciação é um fenômeno rápido, irreversível e transmitido para as células filhas. A proliferação celular é essencial nesse estágio se a divisão celular ocorrer antes que os sistemas de reparo de DNA possam agir, a lesão se torna permanente.

Durante o segundo estágio os agentes promotores aumentam a proliferação celular em tecidos suscetíveis, contribuem para a fixação de mutações, aumentam as alterações na expressão genética e causam mudanças no controle do crescimento celular (OLIVEIRA *et al.*, 2007). A atividade mais importante dos promotores é a mitogênese. A promoção é um estágio reversível, após o desaparecimento de um promotor pode ocorrer regressão na proliferação celular, provavelmente por apoptose. É um estágio que pode ser moldado por fatores fisiológicos e, portanto, limita a extensão da carcinogênese.

A progressão é caracterizada por irreversibilidade, instabilidade genética, crescimento mais rápido, invasão, metástase e mudanças nas características bioquímicas, metabólicas e morfológicas das células. Durante a progressão, a proliferação celular é independente da presença de estímulo (OLIVEIRA *et al.*, 2007).

O tratamento do câncer pode ser feito das seguintes maneiras: cirurgia (retirada do tumor), quimioterapia (medicamentos para destruição de células tumorais), radioterapia (incidência de feixes de radiação ionizantes, eletromagnéticas ou corpusculares com o objetivo de reduzir ou destruir os tumores), hormonioterapia (câncer de mama, próstata ou endométrio combinado com outras modalidades) e imunoterapia (estimula o sistema imunológico para combater as células cancerígenas) (INCA, 2023).

A quimioterapia é a forma de tratamento mais tradicional na maioria dos cânceres e apesar dos medicamentos apresentarem diferentes mecanismos de ação, nem sempre apresentam resultados eficientes, e na maioria das vezes possuem toxicidade significativa sobre os tecidos normais. Esse impasse torna evidente a busca por novos agentes antitumorais, e nesse sentido, as pesquisas com os psicoativos aparecem como possibilidade de tratamento mais eficientes, seletivos e menos tóxico.

Os medicamentos anticâncer mais empregados são: agentes de direcionamento molecular, antimetabólicos, agentes antitubulina e interativos com DNA, anticorpos monoclonais, hormônios, alquilantes, polifuncionais e antibióticos antitumorais (KUMAR *et al.*, 2017). Os agentes antitumorais são classificados em 2 grandes grupos conforme o sítio de ação em: fármacos ciclo-celular específico (ação direta nas fases do ciclo-celular) e os fármacos ciclo-celular não específicos (agem sobre vários momentos das células independentemente de estarem em fase do ciclo ou em repouso) (PORTO, 2012).

A prevenção do câncer compreende um amplo espectro de intervenções e integração de estratégias públicas efetivas a sociedade. O código Europeu contra o câncer descreve 12 maneiras de reduzir o risco de câncer (SCHUZ *et al.*, 2015) representado na figura 7.

Figura 7: Redução de risco de câncer.



Figura 7: Redução de risco de câncer.

Fonte: World Health Organization, 2020.

É unânime nos especialistas em câncer que o melhor a ser feito é a prevenção da doença, exames regulares para tratamento precoce, acesso a diagnóstico precoce e tratamento de qualidade irão garantir o sucesso no tratamento.

Embora muito progresso tenha sido feito desde a identificação até o tratamento do câncer, ele continua sendo um desafio medicinal, fatores como baixa adesão do paciente, resistência aos medicamentos e toxicidades induzidas por medicamentos fornecem estímulos para a descoberta e desenvolvimento de novos quimioterápicos contra o câncer. Além disso, a complexidade das vias fisiopatológicas por trás do câncer aumenta a necessidade de novos agentes multialvo, possuindo menos efeitos colaterais e mais eficácia específica, nesse sentido, as terapias baseadas em alcalóides (AHMAD *et al.*, 2020) estão tomando local de destaque.

2.7.3- Câncer de pele

No Brasil o câncer de pele é o câncer mais comum com aproximadamente 30% de todos os tumores malignos registrados (CAMARÇO *et al.*, 2024). O melanoma origina-se dos melanócitos, células especializadas, responsáveis pela pigmentação da pele, derivados de células da crista neural (MENDES, 2011). Durante a embriogênese, algumas células da crista neural migram para a pele e demais órgãos onde se diferenciam em melanoblastos que são os precursores dos melanócitos. Os melanoblastos se deslocam para a epiderme e continuam a se diferenciar até se tornarem melanócitos funcionais. Uma vez nos tecidos-alvo, os melanócitos começam a produzir melanossoma que armazena melanina. A melanina é transferida para os queratinócitos, determinando a cor da pele, e funciona como um fator protetor do DNA contra efeitos deletérios causados pela radiação ultravioleta (MENDES, 2011). Qualquer desbalanço nesses processos de proliferação e/ou diferenciação pode resultar em câncer de pele.

O câncer de pele pode ser classificado como não-melanoma (o mais prevalente e com menor taxa de mortalidade) e melanoma maligno (com maior índice de mortalidade e disseminação metastática). O principal fator de risco para ambos os tipos de câncer de pele é a exposição excessiva à radiação solar ultravioleta (UV). De acordo com a Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC), 80% dos melanomas são causados pela exposição ao sol. As radiações UVB e UVA produzem radicais livres nas células da pele que causam danos ao DNA, levando a mutações gênicas e proliferação anormal das células. Outros fatores de risco incluem o histórico familiar, a cor da pele, olhos e cabelos, sistema imune debilitado (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2017), a

pré-existência de doenças congênitas como nevo congênito, nevo displásico e o xeroderma pigmentoso (GUZOVSKY, 2011).

O câncer de pele não-melanoma se apresenta como uma pequena lesão que pode ter vasos sanguíneos visíveis, com superfície áspera, pode parecer com uma verruga ou ferida que não cicatriza e é comum em áreas expostas ao sol. Já o melanoma maligno se apresenta como uma pinta vermelha ou um sinal na pele de tom acastanhado, assimétrico, que muda de cor, formato ou tamanho, esse tumor desenvolve-se em qualquer área da pele e, excepcionalmente, pode atingir mucosas, leptomeninges e globo ocular (JÚNIOR, 2005). O melanoma maligno tem a capacidade de metastizar, frequentemente a nível pulmonar, por invasão direta ou para os gânglios linfáticos regionais (FONTOURA, 2019).

O tratamento, independente da abordagem utilizada, tem por objetivo a ressecção total do tumor, a preservação da maior quantidade de tecido normal ao redor da lesão, e, consequentemente, a alta taxa de cura.

Definitivamente a prevenção primária (proteção dos raios ultravioletas) e assim redução do principal fator de risco, secundária (diagnóstico precoce e rastreamento), terciária (tratamento) acompanhados de educação e conscientização (políticas de saúde pública), são fundamentais na redução de sua morbidade e mortalidade do melanoma.

De acordo com o perfil epidemiológico do câncer de pele no Brasil (CAMARÇO *et al.*, 2024) sua incidência vem aumentando e atinge em maior número mulheres da região Sudeste sendo a faixa etária mais vulnerável acima de 60 anos.

Por ser uma lesão com incidência crescente, com resistência a multidrogas e assim, com resultados insatisfatórios com as tradicionais modalidades terapêuticas (MENDES, 2011; JOHNSON *et al.*, 2015; CHANG *et al.*, 2023) têm estimulado a realização de estudos experimentais com linhagens celulares *in vitro* e em modelos murinos e, assim, permitir um melhor entendimento do fenômeno neoplásico.

Existem diversos modelos experimentais de melanoma envolvendo variadas linhagens celulares com diferentes animais de experimentação, e, portanto, apresentando desfechos biológicos variados. A linhagem celular escolhida B16, amplamente utilizada em estudos sobre melanoma, já que foi derivada de um melanoma espontâneo em camundongo da linhagem C57BL/6 e, assim, possui o mesmo MHC (Major Histocompatibility Complex) (GUZOVSKY, 2011), é facilmente visto na pele e órgãos pela presença de melanina e estas células podem ser cultivadas *in vitro* e injetadas por diferentes vias em modelo animal.

Fidler em 1973 foi o responsável pelo isolamento das células B16 e pela sua injeção intravenosa na corrente sanguínea de camundongos C57BL/6 permitindo que circulassem e formassem metástases espontaneamente. Esses camundongos eram eutanasiados, seus pulmões analisados, e as células tumorais que formavam colônias metastáticas eram extraídas e cultivadas em laboratório e então reintroduzidas em novos camundongos. Esse processo foi repetido várias vezes e a cada ciclo as células tumorais se tornavam mais eficientes na formação de metástases e, assim, formaram as subpopulações altamente metastáticas B16F10 e as menos metastáticas B16F1 (FIDLER, 1978).

3- Potencial terapêutico da ayahuasca e seus componentes bioativos

A investigação de plantas psicoativas e seus mecanismos de ação têm fornecido *insights* sobre a neuroquímica de muitas doenças do sistema nervoso central, bem como a química da consciência (O'CONNOR & ROTH, 2005). As pesquisas com psicodélicos ganhou fôlego renovado nos últimos anos, com diversos centros espalhados pelo mundo investigando como essas substâncias interagem com o cérebro levando em consideração o seu potencial no tratamento de transtornos mentais (TUPPER *et al.*, 2015) e incluindo a utilização em pacientes que não respondem as abordagens convencionais (GONÇALVES *et al.*, 2023).

Várias plantas com potencial alucinógeno são usadas milenarmente por grupos xamânicos em inúmeras regiões do mundo. Por exemplo, o peiote, cactos (*Lophophora Williamsii*) a partir do qual se extrai a mescalina, é utilizado por grupos tribais nos Estados Unidos e México. Da mesma forma, a psilocina e psilocibina, extraídas do cogumelo do gênero *Psilocybe*, também tem seus efeitos psicoativos estudados com intuito de serem aproveitados em terapia (NICHOLS, 2016; CARHART-HARRIS & GOODWIN, 2017).

As tribos indígenas usuárias do chá de ayahuasca, a um período bastante longo de tempo, utilizam o chá como elemento de proteção e cura de inúmeras doenças, o que levantou questionamentos dos cientistas a cerca desta nova função das substâncias ativas presentes na infusão (DESMARCHELIER *et al.*; 1996).

A fim de garantir uma visão geral e atualizada dos efeitos terapêuticos do chá de ayahuasca foi feito um extenso levantamento bibliográfico de estudos clínicos em humanos e pré-clínicos (animais e *in vitro*) que serão descritos abaixo.

3.1- Transtornos neurodegenerativos

Os primeiros estudos sobre as propriedades terapêuticas dos componentes da ayahuasca, especificamente a harmina, foi realizado em 1928 (FOLEY, 2003) em uma parceria da empresa farmacêutica Merck com o médico Louis Lewin que administrou injeções subcutâneas em pacientes com diversas doenças neurológicas e observou que *B. caapi* poderia facilitar os movimentos e como estava próximo de sua aposentadoria sugeriu que Karl Wilmans e o neurologista Kurt Beringer continuassem seus experimentos empíricos. Kurt Bheringer testou o extrato do cipó mariri, especificamente no tratamento da doença de Parkinson e concluiu que o tratamento tinha o potencial de aliviar os sintomas e as pesquisas nesse sentido continuam até hoje.

A doença de Parkinson (DP) é uma doença neurodegenerativa progressiva causada pela perda de neurônios, que uma vez danificados param de produzir neurotransmissores (dopamina na substância negra) e comprometem a capacidade do cérebro de controlar os movimentos. Ainda não se sabe ao certo o que danifica certos neurônios em pacientes com Parkinson, mais sabe-se que os radicais livres podem contribuir para esse dano (SAMOYLENKO *et al.*, 2010).

O primeiro ensaio duplo-cego, randomizado e controlado por placebo foi conduzido por SERRANO-DUEÑAS *et al.* (2001) que utilizou o extrato de *Banisteriopsis caapi* em 30 pacientes com doença de Parkinson. Os pacientes foram divididos em dois grupos, 15 receberam placebo e 15 receberam uma dose de ayahuasca e foram avaliados pela escala de avaliação unificada da doença de Parkinson, 12 horas antes da ingestão, e 60, 120 e 240 minutos após a ingestão. Obteve-se melhora significativa na função motora dos pacientes tratados com o chá de ayahuasca após 1 hora da ingestão que durou até 4 horas. Porém, os pacientes que receberam ayahuasca, apresentaram piora dos tremores (característico da doença), náuseas ou vômitos (característicos da ingestão do chá).

SCHWARZ *et al.* (2003) realizaram teste com homogeneizado de fígado de ratos que foram tratados com os extratos vegetais de *B. caapi*, harmina, clorgilina e selegilina e investigados em relação a atividade de MAO-A e MAO-B. Os resultados mostraram que o extrato *B. caapi* e harmina produziram inibição relacionada a concentração da atividade de MAO-A com IC_{50} $1,24.10^{-6}$ g/mL e $4,54.10^{-9}$ M respectivamente e apresentaram pouca atividade de MAO-B. Os extratos de *B. caapi*, harmina e harmalina produziram aumento de dopamina o que é promissor para a doença de Parkinson.

FROST *et al.* (2011) investigaram, em culturas de células da linhagem neuroglioma H4, a capacidade das β -carbolinas inibirem a fosforilação da proteína tau dependente de DYRK1A (proteínas quinases de especificidade dual reguladas via fosforilação de tirosina). O gene da DYRK1A está localizado no cromossomo humano 21, precisamente, na região crítica da Síndrome de Down (SD). Estudos indicam que a participação desta enzima no desenvolvimento anormal do cérebro leva a deficiência intelectual na SD e desenvolvimento de doenças neurodegenerativas, taupias como doença de Alzheimer, demência com corpos de Lewy e doença de Parkinson (FERRER *et al.*, 2005; GOCKLER *et al.*, 2009). Harmina, como inibidor de quinases, irá intervir na via do DYRK1A (GOCKLER *et al.*, 2009; LEAL, 2016) o que teoricamente atenuaria a progressão da neurodegeneração.

DYRK1A está envolvido na fosforilação da proteína tau em locais hiperfosforilados para doença de Alzheimer, FROST *et al.* (2011) identificaram que a fosforilação da tau dependente de DYRK1A acontece na treonina 231 e serina 396 e também concluíram que o silenciamento de DYRK1A, ocasionado pelas harminas, reduz várias taus fosforiladas o que seria promissor para as taupias.

Estudo *in vitro* (DAKIC *et al.*, 2016) investigou os efeitos das harminas em células neurais humanas (hNPCs). O tratamento contou com harminas nas concentrações de 0,1 a 22,5 μ M por 96 horas e o ligante benzotiazólico (INDY), inibidor de DYRK1A. A concentração de 7,5 μ M de harmina foi a mais eficiente na proliferação das células neurais sem evidência de morte celular ou dano ao DNA. Esse estudo também revelou que a harmina é potente inibidor de DYRK1A sugerindo que a harmina aumenta a proliferação neural tendo como mecanismo a inibição de DYRK1A.

Além da degeneração dos neurônios dopaminérgicos na substância negra, a presença de agregados proteicos intracelulares chamados corpos de Lewy também são marcadores patológicos da DP. O principal componente dos corpos de Lewy é a proteína α -sinucleína que pode ser degradada tanto por autofagia quanto pelo sistema ubiquitina-proteassoma (UPS). A disfunção do sistema UPS está associado há uma série de doenças neurodegenerativas e o acúmulo de α -sinucleína pode levar a inibição do sistema, sendo assim, um estudo conduzido por CUI-ZAN *et al.* (2019) confirmou a hipótese que as harminas intensificam a atividade do proteassoma em células neurais e promovem a depuração da proteína α -sinucleína, sendo um potencial agente terapêutico para as doenças neurodegenerativas.

KATCHOBORIAN-NETO *et al.* (2020) realizaram experimento, para avaliar a viabilidade e o potencial neuroprotetor da ayahuasca. Para isso, as células de neuroblastoma humano (SH-SY5Y), um modelo de doença de Parkinson *in vitro*, foram tratadas com ayahuasca, seus alcalóides isolados e DMT. Foi realizado o ensaio de MTT em 2 tempos (48H e 72H) e para avaliar o efeito neuroprotetor as células foram tratadas com a neurotoxina 6-hidroxidopamina. Os resultados revelaram que ayahuasca e seus componentes estimularam intensamente a proliferação celular, provocaram atividade neuroprotetora contra a toxina 6-hidroxidopamina e não houve citotoxicidade para o grupo celular estudado, um resultado promissor para a doença de Parkinson e outras doenças neurodegenerativas.

MORALES-GARCIA *et al.* (2020) avaliaram o efeito neurogênico do DMT *in vitro* (NSCs) e *in vivo* (24 camundongos). Os resultados *in vitro* sugerem que o DMT (7 dias de tratamento) através dos receptores *sigma-1*: promovem uma perda de “stemness” ou um estado indiferenciado das neuroesferas; aumento do número e tamanho das neuroesferas promovendo assim a proliferação de progenitores neurais derivados do hipocampo adulto; estimula a diferenciação de progenitores neurais. *In vivo* o ensaio foi realizado em 2 momentos: no ensaio de curto prazo os animais receberam injeção i.p. de DMT (2mg/kg) por 4 dias consecutivos e no ensaio de longo prazo os animais receberam injeção i.p. de DMT (2mg/kg) em dias alternados por 21 dias. Nos resultados do ensaio de curto prazo, a análise dos cortes seriados do cérebro contendo a zona subgranular do hipocampo (SGZ), demonstrou que o tratamento com DMT estimula a neurogênese (mediada por receptor *sigma-1*) e aumenta a proliferação e migração de precursores na SGZ sugerindo efeito modulador na neurogênese hipocampal. No ensaio de longo prazo houve a confirmação da ação mediada pelo receptor *sigma-1* indicando que o DMT aumenta o número de novos neurônios originados no hipocampo. No teste de memória, os animais tratados possuem melhor desempenho podendo ser correlacionado com a nova produção de neurônios induzido por DMT no hipocampo, o que confirmou os resultados *in vitro*.

SANTOS *et al.* (2022) avaliou a atividade biológica do extrato de *B.caapi*, β -carbolínicos (harmina, harmalina e tetrahydroharmalina) em células microglias BV-2. As microglias são células imunológicas do sistema nervoso e quando ativadas excessivamente liberam citocinas comuns em doenças neurodegenerativas. O tratamento de 24 horas com *B.caapi* (21,4 a 2738 μ M) e de 2 horas com harmina (75,5–302 μ M) diminuiu a proporção de células viáveis, aumentou a proporção de células

necróticas e aumentou produção de ROS. A maioria dos tratamentos apresentou padrão anti-inflamatório com redução de citocinas pró-inflamatórias: interleucinas (IL-6; IL-7), fator de necrose tumoral (TNF) e ou interferon gama (IFN- γ) e aumento de anti-inflamatórias: interleucinas (IL-4; IL-10). Sendo assim, as β -carbolidinas presentes no extrato de *B.caapi* mostraram um efeito citotóxico em altas concentrações e um efeito anti-inflamatório em baixas concentrações sendo um potencial efeito terapêutico do chá de ayahuasca em doenças do sistema nervoso.

Em geral, os estudos sugerem um potencial terapêutico do chá de ayahuasca e de seus componentes isolados, quando se trata da doença de Parkinson e outras doenças neurodegenerativas, devido à atividade neuroprotetora, proliferação de células neuronais, potente atividade inibitória e antioxidante de monoaminas oxidases. Sendo assim, antioxidantes, agonistas de dopamina ou inibidores da MAO podem atuar fornecendo proteção contra a neurodegeneração tendo importante papel no tratamento destas doenças.

3.2- Transtornos psicológicos/psiquiátricos

Atualmente os transtornos psicológicos/psiquiátricos são uma preocupação mundial de Saúde Pública. Segundo o relatório mundial de saúde mental (OMS, 2022) em 2019 quase um bilhão de pessoas viviam com algum transtorno (depressão, esquizofrenia, demência, bipolaridade, deficiência intelectual, transtornos do desenvolvimento, transtornos cognitivos entre outros) que é a principal causa de incapacidade dos indivíduos. Em geral, o tratamento de primeira linha para a maioria desses transtornos inclui psicoterapia e farmacoterapia. LEICHESEN *et al.*, 2022 realizaram uma revisão de meta-análise com ensaios clínicos randomizados de pacientes adultos que trataram os transtornos mentais com psico e farmacoterapia e concluíram que há um pequeno benefício dos tratamentos em relação ao placebo.

Na última década ressurgiu o interesse de estudos com psicoativos para o tratamento de inúmeras doenças incluindo os transtornos mentais (HALBERSTADT, 2015). Os psicoativos surgem como uma alternativa, uma nova abordagem, já que os tratamentos de primeira linha possuem sucesso limitado (SOLIMAN *et al.*, 2024).

Promissores resultados preliminares estimularam o interesse no papel terapêutico do chá de ayahuasca no tratamento de transtornos psicológicos/psiquiátricos em que a depressão se destaca positivamente (DON *et al.*, 1998; PALHANO-FONTES *et al.*, 2015; OSÓRIO *et al.*, 2015).

A depressão é uma condição clínica debilitante e amplamente distribuída na população, classificada pela Organização Mundial de Saúde como uma das doenças mais onerosas da sociedade. É caracterizada como uma doença afetiva que causa alteração do humor com grande importância para a saúde pública, em termos de prevalência, sofrimento, morbidade e sobrecarga econômica (MANJI *et al.*, 2001). Estudos epidemiológicos mostram que aproximadamente 40% a 50% do risco de depressão são genéticos e hereditário (NGUYEN *et al.*, 2023). Fatores não genéticos tão diversos quanto estresse e trauma emocional, infecções virais e até processos estocásticos (ou aleatórios) durante o desenvolvimento do cérebro têm sido implicados na etiologia da depressão (NESTLER *et al.*, 2002).

Existe uma hipótese bem aceita pela comunidade científica que a depressão é causada por um déficit funcional das monoaminas transmissoras (noradrenalina, serotonina e dopamina) em certos locais do cérebro e esses estão envolvidos direta ou indiretamente na bioquímica da doença, uma vez que todos os antidepressivos utilizados clinicamente agem nas monoaminas através de diversos mecanismos. Acredita-se que o estresse e a depressão sejam fenômenos inter-relacionados. Segundo ANDREWS *et al.* (2011), os níveis de noradrenalina, serotonina e dopamina estão diminuídos no cérebro de pacientes deprimidos e então se houver um controle homeostático, o estresse de alguma forma perturba o controle e altera a quantidade dessas aminas causando a depressão.

A serotonina desempenha um importante papel no tratamento dos distúrbios psiquiátricos incluindo a depressão, o que está relacionado ao grande número de fármacos inibidores seletivos de recaptação de serotonina prescritos para o tratamento deste distúrbio psíquico, já que bloqueiam a recaptação de serotonina nos terminais sinápticos resultando em uma elevada concentração extracelular de serotonina (CRYAN & LUCKI, 2000).

O primeiro relatório descrevendo o uso do chá de ayahuasca em rituais religiosos relacionado com problemas psiquiátricos foi realizado por BARBOSA *et al.* (2005) em São Paulo. Os indivíduos foram avaliados dias antes e depois de suas primeiras experiências rituais com o chá de ayahuasca. 28 (vinte e oito) indivíduos foram divididos em dois grupos, 19 (dezenove) participaram do ritual do Santo Daime e 9 (nove) tiveram experiência ritual na União do Vegetal. Foram realizadas entrevistas e escalas psiquiátricas foram analisadas e houve redução significativa de sintomas psiquiátricos no grupo dos indivíduos do Santo Daime após a experiência com o

alucinógeno. Foi notado que o uso religioso da ayahuasca nas grandes cidades do sudoeste brasileiro parece ser predominante da classe média com nível de escolaridade elevado. Ambos os grupos relataram mudanças comportamentais em direção à assertividade, serenidade e alegria.

DA SILVEIRA *et al.* (2005) realizaram estudo com 40 (quarenta) adolescentes frequentadores da UDV por pelo menos 2 (dois) anos, comparados com 40 (quarenta) adolescentes que nunca beberam o chá de ayahuasca. Os adolescentes selecionados eram de ambos os sexos, idades entre 15 e 19 anos, viviam na mesma comunidade e compartilhavam as mesmas influências ambientais. Todos foram avaliados por escalas de triagem psiquiátrica, realizada por psiquiatra treinado, e os resultados foram positivos para os adolescentes frequentadores da UDV já que houve redução, ainda que não significativa, da ansiedade, dismorfia corporal e déficit de atenção. Ainda não ficou claro se as alterações relatadas podem ser atribuídas ao efeito do chá de ayahuasca ou ao processo de filiação religiosa.

Um estudo conduzido por SANTOS *et al.* (2007) investigou o papel chá de ayahuasca no estado de ansiedade e pânico, 9 (nove) voluntários saudáveis frequentadores da comunidade do Santo Daime por no mínimo de 10 (dez) anos, foram submetidos a um protocolo duplo-cego com escalas para avaliar: ansiedade atual (ansiedade-estado), ansiedade persistente (ansiedade-traço) e pânico. Todos os participantes relataram melhora na saúde física e mental além das relações interpessoais no trabalho e na família. Os resultados da ingestão do chá de ayahuasca atenuaram significativamente os parâmetros de desesperança e pânico e não afetaram a ansiedade - estado (experiência temporária) e traço (tendência mais duradoura e estável). Vale destacar que muitos medicamentos prescritos, eficazes ansiolíticos, importantes no tratamento antidepressivo e antipânico atuam exatamente inibindo a recaptação de serotonina, mesmo mecanismo do chá de ayahuasca. Estudos de clonagem de genes transportadores de monoamina em camundongos *knockout* tem sido importantes para investigar o papel de transportadores na regulação das funções neurotransmissoras e suas ligações com distúrbios neurobiológicos e comportamentais (MCKENNA, 2004).

Durante a conferência “Ciência Psicodélica no Século 21” que ocorreu em 2010 e foi patrocinada pela Associação Multidisciplinar de Estudos Psicodélicos (MAPS) foram apresentados trabalhos em que a ayahuasca ganhou destaque (LABETE & CAVNAR 2011). Grande parte dos trabalhos apareceram como auto-reflexão e documentários foram apresentados por cineastas como “A videira da alma: encontros

com a ayahuasca” e “*The Holy Give Me*”. O trabalho de FÁBREGAS *et al.* (2010) mostrou-se de natureza acadêmica: grupos de usuários do chá de ayahuasca e não usuários foram acompanhados por 1 (um) ano e avaliados usando o Índice de Gravidade de Dependência (ASI). Esse estudo contou com a participação de 56 (cinquenta e seis) voluntários usuários de ayahuasca de uma importante Igreja do Santo Daime do Amazonas que foram comparados com 56 (cinquenta e seis) não usuários do Acre de uma pequena cidade amazônica. No âmbito urbano houve a participação de 71 (setenta e um) voluntários usuários de ayahuasca da Barquinha na cidade do Rio Branco que foram comparados com 59 (cinquenta e nove) não usuários do Rio Branco. Como resultado quando comparados com os grupos controles os usuários do chá de ayahuasca apresentaram pontuações significativamente mais baixas para uso de álcool e problemas psiquiátricos quando comparados com seus respectivos controles. Abstinência do uso de drogas ilícitas foi mantida em ambos os grupos, exceto para cannabis no grupo rural. Houve piora tempo dependente na escala de relacionamentos familiares/sociais no grupo rural.

Estudo prospectivo longitudinal realizado por BOUSO *et al.* (2012) comparou usuários do chá de ayahuasca, por no mínimo 15 (quinze) anos, com indivíduos controles que participavam ativamente de alguma religião não ayahuasqueiras. A população rural desse estudo contou com 56 usuários do chá de ayahuasca do Santo Daime, do Amazonas, que foram comparados com o grupo controle, formado por 56 indivíduos da comunidade localizada no coração da floresta Amazônica. A população urbana contou com 17 usuários do chá de ayahuasca da Barquinha, de Rio Branco, e o grupo controle formado por 59 indivíduos também de Rio Branco. Os resultados relatam não haver evidências de alterações patológicas dos usuários do chá de ayahuasca e esses mostraram diminuição da presença de sintomas psicopatológicos quando comparados aos controles além de apresentarem melhor desempenho nos testes neuropsicológicos e pontuarem mais alto em espiritualidade (nos testes de propósito na vida e no teste de bem-estar psicossocial).

Estudo realizado por OSÓRIO *et al.* (2015) utilizou a Escala de Avaliação de Depressão de Hamilton (HAM-D) e a Escala de Rating de Depressão de Montgomery-Åsberg (MADRS) para avaliar 6 (seis) participantes com depressão que ingeriram dose única de 2,2 mL/kg de ayahuasca por quilo corporal. Os scores para essas escalas foram diminuídos significativamente no dia 1 e dia 7 após a administração, o que resulta em uma ação antidepressiva extremamente rápida quando comparamos os antidepressivos

no mercado que em média iniciam seus efeitos após 2 (duas) semanas de uso. Embora promissor esse estudo possui uma limitação importante, já que, não há uma comparação com um grupo placebo, que chega a beneficiar até 40% dos pacientes em ensaios clínicos para depressão quando submetidos a tratamentos com substância placebo.

SANCHES *et al.* (2016) conduziram um estudo aberto em uma unidade psiquiátrica de internação, em que 17 pacientes mulheres de idade média 42 anos, com depressão recorrente foram internadas. Essas pacientes não respondiam a terapêutica dos seus tratamentos com medicamentos antidepressivos e estavam trocando de medicação e, então, receberam dose única de ayahuasca de 120 a 200 mL (2,2 mL/Kg). Os efeitos da administração foram avaliados pelas escalas Escala Avaliação de Depressão de Hamilton (HAM-D), Escala de Rating de Depressão de Montgomery-Åsberg (MADRS), Escala de Mania de Yong (YMRS), Escala Breve de Avaliação Psiquiátrica (BPRS) e Escala de Estados Dissociativos (CADSS), 40, 80, 140 e 180 minutos após a ingestão. As Escalas MADRS e BPRS também foram preenchidas nos dias 1, 7, 14 e 21 após a ingestão da ayahuasca. Os efeitos da ayahuasca no fluxo sanguíneo cerebral foram avaliados por tomografia por emissão de fóton único (SPECT) e foi realizado antes e 8 horas após a administração. Os resultados sugerem um efeito rápido antidepressivo com reduções significativas nas pontuações das escalas relacionadas à depressão, aumento da psicoatividade e da perfusão sanguínea no núcleo accumbens esquerdo, ínsula direita e área subgenua esquerda, regiões cerebrais relacionadas com regulação do humor e emoções. Como conclusão esse estudo sugere a mais estudos que sejam randomizados, duplo-cegos controlados por placebo para a confirmação do resultado antidepressivo de ação rápida da ayahuasca.

PALHANO-FONTES e colaboradores (2017 e 2019) realizaram estudos, os mais robustos até o momento, randomizado, duplo-cego, placebo-controlado em que existiam dois grupos experimentais: 50 voluntários saudáveis (grupo controle) e 35 pacientes com depressão resistente a tratamento. Cada voluntário recebeu 1mL/kg de placebo ou ayahuasca, ajustados de modo a conter 0,36 mg/kg de DMT. Os efeitos antidepressivos foram avaliados pelas escalas HAM-D e MADRS, antes, logo após e, mês a mês, durante 6 (seis) meses após a sessão de tratamento. Em todos os instantes de tempo avaliados foram observados efeitos antidepressivos da ayahuasca quando comparados ao placebo. Dois pontos que merecem destaque é a rapidez dos efeitos antidepressivos que foram encontrados nesse estudo, já que o efeito significativo já ocorre um dia após a

intervenção e melhorias nos níveis de biomarcadores relacionados à depressão, incluindo redução da proteína C reativa (maior fator neurotrófico derivado do cérebro).

ZEIFMAN *et al.* (2019) realizaram estudo de análise secundária (PALHANO-FONTE *et al.*; 2019) em que os voluntários foram avaliados por profissionais capacitados e a escala de Avaliação de Depressão de Montgomery-Åsberg foi aplicada. Essa escala varia de classificação de nível 0 a 6, sendo os níveis 4 (provavelmente seria melhor morto, o suicídio é considerado uma solução possível) e 6 (explícitos para suicídio e preparações ativas para suicídio) foram selecionados para o estudo. Os resultados sugerem que a ayahuasca pode ter potencial terapêutico para a suicídio, ainda que os resultados não foram significantes, há uma tendência a redução dos sintomas logo após a intervenção com a ayahuasca, o que significa uma possível ação rápida, o que no suicídio é muito importante já que o tempo entre surgimento dos pensamentos suicidas e o suicídio é muito curto. Curiosamente, sete dias após a intervenção, os efeitos positivos entre, e dentro do grupo, para diminuição nos sintomas depressivos, não relacionados ao suicídio foram maiores do que os encontrados para o suicídio, o que pode sugerir que a ayahuasca tem um impacto maior nos sintomas depressivos não relacionados ao suicídio do que o suicídio. Pesquisas existentes sugerem que o comportamento de suicídio pode ocorrer independentemente dos sintomas depressivos, e ainda que, ocorra à diminuição dos sintomas depressivos, nem sempre, estão associados a reduções no suicídio. Dados da Organização Mundial da Saúde (2014) revelam que o suicídio é uma questão de saúde pública, já que é uma das principais causas de morte prematura, sendo responsável por quase um milhão de mortes anualmente.

GALVÃO-COELHO e colaboradores (2020) conduziram um estudo duplo-cego controlado por placebo em pacientes com transtorno de depressão maior resistentes ao tratamento. Alguns pacientes depressivos apresentam níveis sanguíneos mais elevados de biomarcadores pró-inflamatórios, como interleucina 6 (IL-6), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e proteína C-reativa (PCR) (GALVÃO-COELHO *et al.*, 2020). O ensaio contou com 73 voluntários, 45 indivíduos saudáveis (20 homens e 25 mulheres), 28 pacientes com depressão maior (21 mulheres e 7 homens) que foram avaliados através de amostras de sangue (biomarcadores inflamatórios: proteína C-reativa, interleucina 6, cortisol, fator neurotrófico, transaminase glutâmico oxalacética e transaminase glutâmico pirúvica) coletadas antes do tratamento e 48 horas após a

ingestão de ayahuasca (1 mL/kg) ou placebo. Nos resultados apresentados os pacientes depressivos resistentes ao tratamento, antes do início do tratamento com ayahuasca, tinham níveis de PCR mais altos do que os controles saudáveis e apresentavam uma correlação negativa entre a proteína C-reativa e os níveis de cortisol. Após 48 horas do tratamento, tanto os pacientes depressivos como os controles, apresentaram redução dos níveis de PCR, o que não ocorreu com os indivíduos que receberam placebo. Os pacientes que foram tratados com ayahuasca apresentaram correlação entre a redução de PCR e melhora dos sintomas depressivos.

Em animais, FORTUNATO *et al.* (2009) realizaram estudo administrando harmina nas doses (5, 10 e 15 mg/kg) e imipramina, antidepressivo conhecido, nas doses (10, 20 e 30 mg/kg). Os ratos foram submetidos a testes comportamentais (campo aberto e natação forçada) e os níveis de BDNF (fator neurotrófico derivado do cérebro), que está envolvido com a depressão, foram quantificados. Os tratamentos com harmina e imipramina nas doses mais altas diminuíram o tempo de imobilidade e aumentaram o tempo de natação, no teste de campo aberto não afetaram a atividade locomotora. O tratamento com a maior dose de harmina mostrou aumento dos níveis de BDNF no hipocampo e foi relacionado com seu potencial antidepressivo.

Nosso grupo de estudo (PIC-TAYLOR *et al.*, 2015) realizou trabalho com ratas *wistar*, seguindo o protocolo da OECD para avaliar os possíveis efeitos de toxicidade agudo do chá de ayahuasca. Para esse teste administrou-se, via gavagem, dose de 30X a dose usual ritual (caracterizada como 150 mL da infusão para indivíduos de 70 kg). Foram realizados testes comportamentais (labirinto de cruz elevada, campo aberto e natação forçada) após 1 hora da administração das doses únicas de 15X ou 30X. Para a avaliação da atividade neuronal e neurotoxicidade, os cérebros foram removidos e fatias das regiões (núcleos dorsais do rafe, núcleo amigdalóide, e formação hipocámpal) foram selecionadas e marcadas com *c-fos*, posteriormente contadas. A avaliação da degeneração neuronal foi feita após a análise de coloração com violeta Nissl/Cresyl. Os resultados para toxicidade aguda de ratas *wistar* indicam que a dose letal oral da infusão de ayahuasca é maior que 50X. Os animais expostos a doses 15X ou 30X apresentaram diminuição das atividades locomotoras e exploratórias nos testes de labirinto de cruz elevada e campo aberto. Os resultados do teste de natação forçada indicam efeito antidepressivo mais pronunciado do que os resultados do grupo controle positivo. A ativação da expressão da *c-fos* foi observada em áreas cerebrais envolvidas na neurotransmissão serotoninérgica.

Como a ayahuasca é usada por diferentes faixas etárias, no contexto religioso, um estudo conduzido por CORREA-NETTO *et al.* (2017) avaliou os efeitos da exposição à ayahuasca em 120 camundongos, de diferentes idades em relação a memória e ansiedade. Os animais receberam oralmente a dose de ayahuasca de 1,5 mL/kg duas vezes por semana e os testes de labirinto em cruz elevada, campo aberto e labirinto aquático de Morris foram realizados. Os resultados demonstraram que a ayahuasca causou ansiedade e comprometimento da memória na infância e adolescência, no entanto, essas alterações não foram duradouras, pois na fase adulta não foram mais observadas.

SILVA *et al.* (2022) conduziram um estudo em que a neuroinflamação foi induzida em 80 ratos pela aplicação de injeção (i.p.) de lipopolissacarídeo (LPS) na dose de 0,63 mg/kg/mL e avaliado o potencial ansiolítico e antidepressivo do chá de ayahuasca. A administração do chá de ayahuasca foi feita oralmente na dose de 4 mL/kg e os testes de campo aberto e natação forçada foram realizados. Ao analisar os resultados houve redução dos comportamentos de ansiedade e depressão nesse modelo animal de neuroinflamação.

Um estudo de revisão feita por MAIA *et al.* (2023) concluiu que a depressão é a doença com mais evidências quando o assunto é terapêutica do chá de ayahuasca já que encontramos estudos controlados com placebo, duplo-cego e randomizados, o que geralmente não encontramos quando a ayahuasca é utilizada no possível tratamento de outras doenças.

Doenças mais complexas como a esquizofrenia também já foram alvo do estudo com o chá de ayahuasca. A esquizofrenia é um dos transtornos mentais de maior complexidade por sua ação multifatorial envolvendo fatores genéticos e ambientais. A doença se caracteriza por uma ampla desordem mental e quando causada por perturbações enzimáticas ocorre uma alta produção de alcalóides indólicos aminas (IAA) como 5-metoxi-N,N-dimetiltriptamina (5-MeO-DMT) e DMT. Segundo o estudo de POMILIO *et al.* (1999) essas substâncias foram encontradas em exame de urina de pacientes com problemas psiquiátricos, incluindo a esquizofrenia aguda e usuários habituais de ayahuasca. Muitos relatos são conhecidos relacionando a diminuição da MAO na esquizofrenia, pois assim, ocorre o acúmulo de IAA que agem no sistema nervoso provocando as alucinações características da doença.

Estudo observacional com a participação de 45 indivíduos realizado por DOMÍNGUEZ-CLAVÉ e colaboradores (2018) em comunidades ayahuasqueiras de

Barcelona avaliou os indivíduos com transtorno de personalidade *borderline* que é caracterizado por instabilidade emocional e déficits de atenção. Seus participantes foram divididos em 2 grupos: 12 indivíduos diagnosticados com transtorno de personalidade *borderline* e 33 indivíduos que não apresentaram *scores* nas escalas, e portanto, não diagnosticados com transtorno de personalidade *borderline*. Os resultados indicaram efeitos positivos da ayahuasca na regulação emocional dos indivíduos com transtorno e os indivíduos que não foram incluídos como portadores do transtorno apresentaram melhora na regulação emocional e na atenção plena.

GONZÁLEZ e colaboradores (2019) realizaram o primeiro estudo observacional de longo prazo, 1 (um) ano, em que indivíduos que estavam enfrentando o luto pela perda de ente querido frequentaram seções regulares com a ingestão do chá de ayahuasca e obtiveram redução significativa da gravidade do luto.

O transtorno de estresse pós-traumático (TEPT), uma síndrome incapacitante em resposta a um evento traumático correlacionado a comorbidades psicológicas e fisiológicas que estão associados ao estresse oxidativo elevado e a inflamação, teve seu tratamento avaliado com ayahuasca por NIELSON & MEGLER (2014) em que 3 veteranos de guerra participaram de cerimônias com ayahuasca em um centro de cura no Peru e se referiram a ayahuasca como um remédio que atuou positivamente no tratamento do transtorno.

INSERRA (2018) com o objetivo de avaliar como a ayahuasca atua no TEPT, hipotetizou que por meio da hiperativação dos centros relacionados ao trauma e à memória emocional, a ayahuasca facilita a recuperação de memórias traumáticas, já que ocorre ativação dos receptores *sigma-1* (mediado por DMT) concomitantes com IMAOs modulando as vias antiapoptóticas.

KELLEY *et al.* (2022) realizaram estudo em um modelo animal de transtorno de estresse pós-traumático (TEPT). O tratamento animal foi feito com injeção i.p. de DMT a 2 mg/kg, harmalina a 1,5 mg/kg e combinação de DMT e harmalina (pharmahuasca) em dias alternados, por 5 dias, após um regime de modelo de estresse que durou 30 dias. Os resultados mostraram que DMT e pharmahuasca reduziram a produção de ROS (espécies reativas de oxigênio) no hipocampo e córtex pré-frontal. Os tratamentos normalizaram os genes diferencialmente expressos sobrepostos do TEPT e foram relacionados com produção de ROS, inflamação, neurotransmissão e neuroplasticidade.

Estudos pré-clínicos em modelos biológicos animais e clínicos, com grupos controles, e número de amostra estatisticamente confiáveis são necessários para

minimizar fatores de confundimento presentes no potencial uso terapêutico do chá de ayahuasca em transtornos mentais. A depressão, até o momento, é o transtorno com mais evidências terapêuticas relacionadas ao uso do chá de ayahuasca.

3.3-Transtornos por uso abusivo de substâncias

De acordo com a OMS, em todo o mundo, 3 (três) milhões de mortes por ano resultam do uso abusivo de álcool, seu uso nocivo é um fator causal para mais de 200 doenças e lesões. O Centro de Informações sobre Saúde do Álcool no Brasil divulgou em julho de 2023 um panorama que constatou que boa parte dos brasileiros abusam de bebidas alcoólicas, mas não percebem seu padrão de consumo como problemático. Os dados do levantamento mostram que 27% dos brasileiros têm consumo moderado de álcool e 17% abusivos. O brasileiro que consome álcool tanto de forma moderada quanto abusiva possui maior escolaridade e maior renda. De acordo com o relatório global sobre álcool e saúde (WHO, 2018) 54,1% de usuários de álcool estão nas Américas e 59,9% na Europa, portanto, o abuso do álcool é prevalente nessas regiões sendo 4,1% nas Américas e 3,7% na Europa.

Tratamentos convencionais para dependências de substâncias têm mostrado sucesso limitado (LOIZAGA-VELDER *et al.*, 2023). A busca por novas e mais eficazes estratégias tem levado a exploração dos psicoativos como medicina complementar no tratamento das dependências. O uso da ayahuasca no tratamento da dependência química tem se mostrado promissor, principalmente em relação ao consumo de álcool. O primeiro estudo com uma perspectiva biomédica aconteceu em 1996 quando GROB e colaboradores selecionaram 15 homens moradores de Manaus e frequentadores da UDV e 15 homens como controle que nunca haviam consumido o chá de ayahuasca. Entrevistas psiquiátricas foram conduzidas, e os resultados, ainda que preliminares e provisórios, indicaram que 11 (onze) indivíduos frequentadores da UDV que tiveram em longo prazo transtornos com álcool alcançaram abstinência completa.

DOERING-SILVEIRA *et al.* (2005) avaliaram o uso da ayahuasca no contexto religioso por 84 adolescentes de 15 à 19 anos. Desses adolescentes 41 eram frequentadores da UDV e 43 nunca haviam usado ayahuasca. As entrevistas foram avaliadas por psiquiatra e indicaram que ao longo da vida, existe uma proporção maior de usuários de cocaína (10,3%) e tabaco (52,5%) entre os adolescentes frequentadores da UDV do que o grupo de adolescentes controle (2,4% e 34,9%) respectivamente. Durante o último ano, o ano anterior à avaliação, existiu uma proporção maior de

usuários de álcool (74,4%) no grupo controle quando comparados aos frequentadores da UDV (46,3%). No mês anterior a avaliação, os adolescentes do grupo controle (65,1%) relataram uso de álcool enquanto (32,5%) dos adolescentes membros da UDV o fizeram. Os autores chegaram à conclusão que a adesão a uma religião, como a UDV, que possui um conjunto de princípios, normas e valores direcionam positivamente os adolescentes a comportamentos mais responsáveis e seguros como o não abuso de substâncias.

SANTOS *et al.* (2006) descrevem um caso em que a mulher estudada relata abandono de uso de cocaína e álcool e uma profunda mudança de vida após a entrada no ambiente religioso com uso do chá de ayahuasca.

O primeiro estudo que avaliou o estado de saúde cognitiva e dependência alcoólica dos Americanos membros do Santo Daime, de Oregon nos Estados Unidos, foi realizado por HALPERN e colaboradores (2008). Dos 40 membros, 32 participaram das entrevistas estruturadas psiquiátricas e as escalas de avaliações foram preenchidas. Relatos de melhora na saúde e nos relacionamentos foram descritos, assim como, recuperação e abstinência da dependência de álcool através da participação nas cerimônias religiosas do Santo Daime.

THOMAS *et al.* (2013) realizaram estudos com 12 participantes rurais do Canadá, em retiros, com acompanhamento especializado, que receberam terapia assistida com ayahuasca. As escalas demonstraram melhora significativa para esperança, emponderamento e qualidade de vida. Houve redução do uso de álcool e tabaco e redução significativa para o uso de cocaína embora o uso de cannabis e opióides não tenham diminuído.

Nessa linha de investigação LOIZAGA-VELDER & VENES (2014) entrevistaram 13 terapeutas que utilizavam ayahuasca em seus pacientes dependentes de substâncias, revisaram 7 projetos terapêuticos na América do Sul, entrevistaram 2 pesquisadores especialistas no tema e 14 indivíduos que estavam sobre tratamento com ayahuasca. Chegaram à conclusão que a ayahuasca pode ser uma ferramenta nesse tratamento desde que em um contexto apropriado correlacionando as experiências psicológicas e espirituais.

OLIVEIRA-LIMA *et al.* (2015) realizaram estudo com administração intraperitoneal de ayahuasca em ratos na dose de 10 mL/kg de peso corporal e etanol na dose de 1,8 mg/kg, os resultados indicam que a ayahuasca é eficiente na prevenção do desenvolvimento de sensibilização comportamental induzida por etanol sem modificar a

atividade locomotora espontânea. Nesta mesma linha de pesquisa dois trabalhos merecem destaque NOLLI *et al.* (2020) que expuseram 60 ratos a solução de etanol 20% por 8 semanas e trataram com ayahuasca nas doses (0,5X, 1X e 2X) correspondentes as doses rituais da União do Vegetal (1X = 200 mL para pessoa de 70 Kg) por 5 dias. O tratamento não alterou a ingestão de etanol, no entanto, diminuiu a expressão de *c-fos* no córtex orbital medial. GIANFRATTI *et al.* (2022) administraram ayahuasca via oral (500 mg/kg) antes do etanol (1,8 g/kg) e realizaram o teste de preferência de lugar condicionado (CPP) e a ayahuasca inibiu o condicionamento causado pelo etanol, podendo assim contribuir para o tratamento do abuso e dependência do álcool. ALMEIDA *et al.*, (2022) realizou experimento com 72 camundongos machos que receberam 2,2 g/kg de etanol durante 9 dias (em dias alternados) e tratados diariamente com ayahuasca (1,76 mg de DMT/kg de animal) via gavagem por 8 dias. Os resultados indicam eficácia para atenuar a expressão de sensibilização comportamental induzida por etanol, efeito ansiolítico durante a abstinência por etanol e preveniu as alterações induzidas por etanol nos níveis de receptor 5-HT1a e prodinorfina no hipocampo e reduziu os efeitos do etanol na dinorfina/prodinorfina no estriado.

BARBOSA *et al.* (2018) compararam os níveis de transtorno por uso de álcool e tabaco entre 1.947 frequentadores da UDV de diferentes estados brasileiros (Amazonas, Pará, Santa Catarina, São Paulo, Bahia, Ceará, Minas Gerais, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás e Distrito Federal) que foram comparados com uma amostra normativa nacional de 7.939 indivíduos. Os frequentadores da UDV foram avaliados e os resultados mostraram que o uso de álcool e tabaco, ao longo da vida, dos indivíduos controle na faixa etária de 18 a 24 anos foi maior do que os frequentadores da UDV, já nas faixas etárias de 25 a 34 anos e mais de 34 anos o uso de álcool e tabaco foi maior nos frequentadores da UDV. Os resultados são diferentes nos 12 meses anteriores ao estudo e indicou que os frequentadores da UDV apresentaram transtorno de abuso de álcool e tabaco menor do que a amostra controle revelando o impacto das cerimônias e filiação com a ayahuasca.

CRUZ & NAPPO (2018) realizaram um estudo com 40 usuários ou ex-usuários de crack (38 homens e 2 mulheres) de idade média 35 anos e classe socioeconômica mais altas assim como a escolaridade. A grande maioria dos participantes já havia fracassado com tratamentos tradicionais o que resultou em falta de confiança na eficácia desses, e assim em busca de alternativa, como o uso da ayahuasca, que a princípio atraiu o

público por curiosidade e busca de prazer e depois os surpreendeu com a religiosidade envolvida. O tratamento consistia no serviço religioso oferecido pelo Santo Daime, consumo do chá de ayahuasca e a participação na comunidade do Santo Daime com a troca de experiência e apoio. Durante o tratamento, 36 eram usuários de crack, 4 estavam em abstinência e procuravam manter esse status com o chá de ayahuasca. A maioria dos indivíduos (32) relataram que o desejo pela droga desapareceu, foi substituído por sentimentos de culpa, gratidão e arrependimento. Já os 8 (oito) indivíduos que voltaram ao uso do crack, depois de terem alcançado a abstinência com ajuda da ayahuasca, relataram que os motivos da recaída estavam relacionados com a saída da comunidade do Santo Daime e consequentemente da participação dos rituais religiosos, falta de carinho e de receptividade.

BERLOWITZ *et al.* (2019) avaliaram o efeito terapêutico da ayahuasca em 36 homens, com idade média de 31 anos que chegaram até o final do tratamento (poderia variar de 3 a 12 meses de acordo com a necessidade individual) e os resultados mostraram uma diminuição significativa para o uso de drogas, uso de álcool e estado psiquiátrico.

A maioria dos estudos revisados demonstraram associação significativa com a melhora nas condições investigadas. Contudo, é difícil tirar conclusões definitivas, pois a maioria dos estudos sofre com amostras pequenas, medidas inconsistentes, desenho experimental inadequado e envolvimento religioso, o que gera um fator de confundimento. Para avaliar adequadamente os riscos e benefícios potenciais do chá de ayahuasca no tratamento ao uso abusivo de substâncias, são necessários mais estudos padronizados e bem projetados que demonstrem o impacto real da substância-teste nas na melhora no quadro clínico.

3.4- Outras aplicações terapêuticas

3.4.1- Genotoxicidade

Em relação à genotoxicidade apenas dois estudos foram encontrados até o momento, um realizado por JÚNIOR (2014) e o outro realizado por KUMMROW *et al.* (2019). Em seu estudo (JÚNIOR, 2014) tratou com única dose ratos *wistar*, via gavagem, com doses de 1X (dose utilizada nos rituais), 5X e 15X. O grupo controle recebeu injeção intraperitoneal de cloridrato de doxorubicina (é uma antraciclina utilizada no tratamento de câncer, possui um efeito citotóxico e é intercalante do DNA, sendo amplamente utilizada como controle positivo em testes de genotoxicidade). Após

30 horas do tratamento os animais foram eutanasiados e as células brancas foram coletadas para a realização do ensaio cometa e os eritrócitos da medula óssea para o teste de micronúcleo. Os resultados mostraram que os animais tratados nas doses 1X e 5X não apresentaram efeito genotóxico, entretanto na dose 15X observou-se danos citogenéticos pelo aumento da incidência de micronúcleos.

Geralmente a primeira linha de avaliação de mutagenicidade dos produtos destinados ao uso terapêutico é o ensaio de *Salmonella*/microsossoma, que foi realizado por KUMMROW *et al.* (2019). Neste trabalho, a mutagenicidade da ayahuasca e de seus constituintes separadamente (harmina, harmalina, *P. viridis* e *B. caapi*) foram testados no ensaio de *Salmonella*/microsossoma com TA98 e TA100. Para avaliar a toxicidade, após um período de 66 horas de incubação, as colônias foram analisadas por inspeção no fundo das placas usando um estereomicroscópio. As amostras de ayahuasca foram mutagênicas para ambas as estirpes, TA98 e TA100, com e sem metabolismo de ativação, portanto, capaz de causar deslocamento de quadro e mutações de substituições de pares de bases. A amostra com *P. viridis* não foi mutagênica, já a amostra com *B. caapi* foi mutagênica para TA98, harmina não foi mutagênica e harmalina foi mutagênica para TA98. Esses resultados sugerem que a atividade mutagênica detectada pela TA98 em ambas as amostras de ayahuasca pode ser originário de compostos presentes na *B. caapi*., no entanto, a mutagenicidade detectada pela TA100 pode ser originada da interação entre diferentes compostos de ambas as plantas, outros compostos formados durante a bebida, efeitos da preparação ou co-mutagenicidade de harmina e harmalina (KUMMROW *et al.*, 2019).

Estudos de genotoxicidade com o DMT isolado são inexistentes, entretanto, a molécula de DMT possui em sua estrutura molecular o radical N di-alquil, que está ligado a efeitos genotóxicos em uma série de fármacos conhecidos (SNYDER, 2010). Acredita-se que esse radical é capaz de se ligar de forma não covalente ao DNA, intercalando-se a ele (SNYDER, 2010) conferindo aos compostos em que está presente uma ação genotóxica.

3.4.2- Interação farmacológica

Com o objetivo de avaliar as possíveis interações farmacológicas entre a ayahuasca e fármacos utilizados em anestésias gerais, já que é procedimento comum entre os usuários beber um copo de ayahuasca antes de uma cirurgia para reduzir a ansiedade e promover calma PIRES *et al.* (2018) realizaram estudo em camundongos que foram

pré-tratados com doses de ayahuasca 12, 120 e 1200 mg / kg (0,1 a 10 vezes a dose média consumida pelos seres humanos em rituais religiosos) e tratados com morfina e propofol. Os resultados sugeriram que nas doses maiores há interação entre a ayahuasca e a morfina e o propofol, verificados pelas modificações dos efeitos isolados desses medicamentos. A ayahuasca aumentou e ampliou o efeito da morfina na placa quente, sugerindo assim que a ayahuasca pode reduzir seu metabolismo. Os resultados obtidos da interação entre ayahuasca e propofol parecem contraditório, já que ocorreu um aumento da incordenação e uma diminuição do tempo de sono, porém os usuários relatam que o chá promove um relaxamento corporal e falta de sono.

3.4.3- Distúrbios alimentares

Estudo exploratório com entrevistas, realizado por LAFRANCE *et al.* (2017) avaliou o tratamento de distúrbios alimentares com a participação em cerimônias religiosas com utilização da ayahuasca. 16 indivíduos (14 mulheres e 2 homens) com idade média de 33 anos, residentes da América do Norte, que participaram em média de 11 rituais religiosos com o chá de ayahuasca foram avaliados. Destes pacientes, 10 tinham diagnóstico de anorexia nervosa e 6 de bulimia nervosa e já haviam tentado vários tratamentos tradicionais. Para a grande maioria dos pacientes houve melhora nos distúrbios alimentares em relação ao tratamento e até remissão. Os pacientes relataram maior atenção, amor-próprio e capacidade de gerenciar suas emoções dolorosas, destacando o componente espiritual de cura e recuperação.

3.4.4- Sono

BARBANOJ *et al.* (2008) realizaram estudo randomizado duplo cego controlado por placebo para investigar os efeitos do consumo diurno da ayahuasca nos parâmetros de sono. O estudo iniciou com 22 voluntários saudáveis do sexo masculino e amostra final continha 18 voluntários. Os voluntários foram divididos em grupos: placebo, ayahuasca (1mg DMT/kg de peso corporal) e controle positivo (20 mg d-anfetamina). O experimento foi realizado em 3 sessões em que os voluntários chegavam às 7 horas da manhã e permaneciam até as 12 horas do dia seguinte. O sono era analisado (espectral do sono, polissonografia e qualidade de sono) das 23 horas às 7 horas da manhã. Os resultados mostraram que a ayahuasca, em contraste com o grupo controle positivo, não induziu deterioração da qualidade de sono ou interrupção de início e manutenção do sono, assim como também, aumentou a potência do sono em ondas lentas no primeiro

ciclo noturno. Ayahuasca, assim como o grupo controle positivo, inibiu o sono REM, diminuindo sua duração, tanto em valores absolutos quanto em porcentagem do tempo total de sono mostrando aumento de tendência à latência de início e aumentou potência na faixa alta de frequência principalmente no estágio 2.

A privação de sono pode comprometer diretamente a qualidade de vida dos indivíduos impactando o sistema imunológico, causando déficits de atenção e memória (KUMAR *et al.*, 2012) desregulando o sistema neuroendócrino e aumentando a suscetibilidade de doenças (RUIZ *et al.*, 2012), sendo assim, manter a qualidade do sono é essencial para uma boa qualidade de vida e saúde. ALVARENGA *et al.* (2014) investigaram os efeitos do chá de ayahuasca sozinho e em combinação com privação de sono sobre a função sexual em ratos e os hormônios envolvidos na função sexual. Os animais (8 grupos com 10 animais cada) foram treinados para adquirir experiência sexual e foram submetidos a 96 horas de privação de sono. A ayahuasca foi administrada por gavagem com DMT nas concentrações de 250, 500 e 1.000 ug/mL e após 30 minutos da ingestão os animais foram submetidos ao teste de comportamento. Os resultados mostraram que a ayahuasca quando administrada sozinha diminuiu o desempenho sexual dos animais em todas as doses usadas, quando a ayahuasca estava associada à privação do sono os resultados foram heterogêneos, na dose mais baixa de ayahuasca o desempenho sexual aumentou já nas doses alta e intermediária o desempenho sexual foi prejudicado. Os resultados para concentração de progesterona foram semelhantes em todos os grupos, exceto os animais na dose mais alta de ayahuasca privados de sono os níveis foram mais baixos. Ocorreu redução na concentração de testosterona no grupo privado de sono, sendo assim, a privação de sono prejudica o comportamento sexual e é acompanhado pela diminuição da concentração da testosterona.

3.4.5- Atividade antibacteriana/antiparasitária

ARSHAD *et al.* (2008), investigaram *in vitro*, o potencial antimicrobiano de 12 extratos de plantas medicinais em vários patógenos resistentes a antibióticos e alguns protozoários isolados de aves. Só duas plantas, *Peganum harmala* e *Eucalyptus globulus* apresentaram respostas positivas. Esses extratos também foram utilizados como possível tratamento a 19 bactérias e em culturas clonais de três protozoários (*Histomonas meleagridis*, *Tetratrichomonas gallinarum* e *Blastocystis sp.*). Apenas *Peganum harmala* inibiu o crescimento de todas as bactérias e protozoários em 0,38-

1,55 mg /mL e 0,63-1,65 mg /mL, respectivamente. Assim, *Peganum harmala* ou seus alcalóides provavelmente poderiam ser usados para o controle de bactérias resistentes a antibióticos, bem como para o controle de importantes protozoários de aves.

Estudo realizado por BUSSMAN *et al.* (2010) avaliou a propriedade antibacteriana (contra bactérias Gram-Positivas e Gram-Negativas) de 140 espécies de plantas tradicionalmente usadas por curandeiros no norte do Peru para tratar inflamação/infecção. O extrato de *B.caapi* foi testado e foi avaliada a concentração inibitória mínima apresentando atividade contra *E.coli*.

ALOMAR *et al.* (2013) relatam a atividade microbica *in vitro* das β -carbolinas (harmina, harmalina e norhamalina), já que exibiram efeitos anti-*Toxoplasma gondii* evidenciado pela inibição parcial da invasão e replicação do parasita. Particularmente, a harmina demonstrou ser o medicamento mais ativo. Estudos indicam atividade antimalárica das β -carbolinas e baixa citotoxicidade para células humanas, de acordo com o modelo de SHAHINAS *et al.* (2012), a harmina potencializa o efeito da cloroquina e da artemisinina (importantes antimaláricos) tanto *in vitro* como *in vivo* (camundongo *Plasmodium berghei*). Para Di GIORGIO e colaboradores (2004), harmina e harmalina demonstraram um efeito moderado nos promastigotas de *Leishmania infantum*, principalmente pelo acúmulo de parasitas presos nas fases S-G2 / M do ciclo celular, enquanto a harmalina demonstrou apenas atividade anti-leishmanial contra amastigotas intracelulares por inibição da enzima PKC.

MENEGUETTI, D. & MENEGUETTI, N. (2014) mencionaram várias doenças parasitárias em que o uso do chá de ayahuasca ou teve ação direta na doença, ou na profilaxia da doença, atuando positivamente e beneficiando os indivíduos. Dentre as doenças mencionadas destaca-se: ação anti-tripanosomal, contra o *Trypanosoma lewisii*, que tem a capacidade de infectar primatas; efeitos contra o *Trypanosoma cruzi*, o agente etiológico da tripanossomíase, conhecida popularmente como doença de Chagas; combate o *Plasmodium sp*, um dos agentes etiológico da malária; ação contra *Leishmania sp*, agente etiológico da Leishmaniose; efeitos contra *Toxoplasma gondii*, agente etiológico da toxoplasmose; ação profilática contra amebíase e giardíase; e, combate e ação profilática contra doenças parasitárias helmínticas. O uso do chá de ayahuasca por habitantes de áreas de risco das doenças parasitárias tropicais, pode ser explicado, em parte, por essas ações anti-parasitárias e profiláticas.

3.4.6- Atividade anti-inflamatória/antioxidante

LIU *et al.* (2017) testaram os efeitos de 7 alcalóides (harmina, harmalina, harmalol, harmol, vasicina, vasicionona e desoxivasicina, que foram purificados de *P. harmala*) no fator nuclear kappa β (NF- κ β), envolvido na transcrição de diversos genes ligados à resposta imunoinflamatória, entre outros genes envolvidos na apoptose e na transformação neoplásica celular (BLANCO & NETO, 2003). O NF- κ B pode ser ativado por uma variedade de estímulos extracelulares, incluindo citocinas pró-inflamatórias com o TNF- α e a IL-1, fatores ativadores de linfócitos T e B, LPS bacteriano, proteínas virais, fatores de crescimento e fatores indutores de estresse (BLANCO & NETO, 2003). Atualmente está bem relatado na literatura que o NF- κ B é um dos reguladores mais importantes da expressão de genes pró-inflamatórios (LIU *et al.*, 2017). Dos 7 alcalóides testados harmina e harmol diminuíram a atividade de transcrição de NF- κ B. Os ensaios comprovaram que harmina é um inibidor de NF- κ B podendo assim exercer um efeito anti-inflamatório. No teste *in vivo*, camundongos com lesão pulmonar aguda, induzida por LPS, foram tratados com harmina que preveniu as alterações patológicas do pulmão suprimindo a congestão pulmonar. Os níveis de citocinas inflamatórias estavam reduzidas sugerindo que a harmina pode inibir a resposta inflamatória por meio da inibição da sinalização do NF- κ B.

Um estudo conduzido por GONÇALVES *et al.* (2020) investigou as propriedades antioxidantes (ensaios: teste de branqueamento de β -caroteno e eliminação de radicais livres), anti-inflamatórias (ensaio: desnaturação de proteínas) e antimicrobiana (ensaios: difusão em disco, método de microtitulação de resazurina, anti-quorum e anti-biofilme) de 4 plantas individuais (*P.viridis*, *B.caapi*, *M.hostilis* e *P.harmala*), uma mistura comercial e 4 misturas usadas na preparação da ayahuasca (*P.viridis* e *B.caapi*; *P.viridis* e *P.harmala*; *B.caapi* e *M.hostilis*; *M.hostilis* e *P.harmala*). Os resultados mostraram que de maneira geral as plantas analisadas são boa fonte de compostos bioativos com capacidade de sequestrar radicais livres e inibir a peroxidação lipídica caracterizando assim um bom antioxidante. *P.viridis* e *B.caapi* apresentaram menor atividade anti-inflamatória. A atividade antimicrobiana foi testada em 4 bactérias Gram-positivas e 4 Gram-negativas (*L. monocytogenes*, *B. cereus*, *E. faecalis*, *S. aureus*, *E. coli*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa* e *S. Typhimurium*). No geral as amostras apresentaram notável atividade antibacteriana nas cepas testadas, as exceções: *P.viridis* e *B.caapi* não foram capazes de inibir o crescimento e *L. monocytogenes*, *S. typhimurim*, *E. coli* e *E. faecalis*. Em relação à mistura de *P. viridis* e *P.harmala*, houve redução da inibição no

crescimento de *L.monocytogenes* e ausência de inibição do crescimento de *E.faecalis*. *P.viridis* e *B.caapi* se destacaram em 3 ensaios com os maiores desempenhos antimicrobianos, apresentando os maiores valores de concentração mínima inibitória, inibindo o *quorum sensing* e apresentando atividade anti-biofilme.

O trabalho escrito por BERROUGUI *et al.* (2006) descreve a atividade antioxidante, os mecanismos envolvidos no efeito vasorelaxante da harmina e da harmalina em ratos. De acordo com os autores esses alcalóides induzem de maneira dose-dependente o relaxamento na artéria aorta pré-contraída com noradrenalina ou cloreto de potássio.

3.4.7- Cicatrização

O primeiro estudo *in vitro* (com fibroblastos NHDF) realizado por GONÇALVES *et al.* (2022) avaliou o potencial cicatrizante de uma mistura comercial, 4 plantas individuais (*P.viridis*, *B.caapi*, *M.hostilis* e *P.harmala*) e 4 misturas (*P.viridis* e *B.caapi*; *P.viridis* e *M.hostilis*; *B.caapi* e *M.hostilis*; *M.hostilis* e *P.harmala*). A citotoxicidade foi avaliada utilizando o ensaio de MTT e *P.harmala* apresentou alta diminuição da viabilidade celular o que não aconteceu com as outras amostras. O potencial de cicatrização foi avaliado pelo teste de migração das células na lesão e todas as amostras apresentaram diminuição da lesão. A integridade da monocamada celular foi avaliada pelo ensaio de resistência elétrica transendotelial e após a incubação a mistura *M.hostilis* e *P.harmala* apresentaram resultado significativos na integridade da monocamada. A permeabilidade da camada celular foi avaliada pelo ensaio de permeabilidade do amarelo de Lúcer e os resultados com alterações significativas só ocorreram quando as células foram incubadas com a amostra de *P. viridis* e *P. harmala*. Os resultados revelaram que as amostras de ayahuasca apresentaram potencial cicatrizante.

3.4.8- Atividade cerebral

RIBA *et al.* (2002) avaliaram os efeitos da ayahuasca na atividade cerebral por meio de eletroencefalograma quantitativo (q-EEG), em ensaio randomizado duplo-cego controlado por placebo, com 18 voluntários que receberam doses de 0,6 e 0,85 mg DMT/kg, os efeitos subjetivos foram avaliados pela Escala de Avaliação de Alucinógenos (HRS). Os resultados mostraram aumento em todas as sub-escalas do

HRS e modificações da atividade elétrica cerebral, ambos dependentes da dose. A potência absoluta diminuiu em todas as bandas de frequência, com destaque para banda teta. A potência relativa diminuiu nas bandas delta e teta e aumentou na banda beta, com destaque para sub-bandas beta-3 e beta-4. As modificações q-EEG começaram em 15-30 minutos atingiram pico entre 45-120 minutos e diminuíram para níveis basais em 4 a 6 horas após a administração, sendo assim, estão relacionados com os efeitos subjetivos que são relatados pelos usuários da ayahuasca. Concluíram que os resultados indicam características comuns com o perfil mostrado por drogas pró-dopaminérgicas e pró-serotonérgicas e apoia o envolvimento do agonismo do receptor serotoninérgico 5-HT₂ e dopaminérgico D₂ nos efeitos centrais da ayahuasca.

Continuando os estudos com a ayahuasca RIBA *et al.* (2004) avaliaram os efeitos da ayahuasca na atividade elétrica cerebral por meio de tomografia eletromagnética de baixa resolução (LORETA), em ensaio randomizado duplo-cego controlado por placebo, com 18 voluntários que receberam dose de 0,85 mg DMT/kg e os efeitos subjetivos foram avaliados pela Escala de Avaliação de Alucinógenos (HRS). Os resultados mostraram aumento em todas as sub-escalas do HRS, houve diminuição da densidade de potência nas bandas de frequência teta (encontrada no córtex temporo-medial e lateral nas regiões frontomediais), alfa-2, delta e beta-1 (encontradas predominantemente na junção temporo-parieto-occipital). Concluíram que os efeitos psicológicos causados pela ayahuasca são devidos ao envolvimento do córtex de associação unimodal e heteromodal e das estruturas límbicas.

Os mesmos autores RIBA *et al.* (2006) investigaram os efeitos da ayahuasca no fluxo sanguíneo cerebral regional, por meio de tomografia por emissão de fóton único (SPECT), em 15 voluntários que receberam dose oral única de 1,0 mg DMT/kg. O ensaio randomizado duplo-cego controlado por placebo mostrou que após 100-110 minutos da administração aguda da ayahuasca ocorre aumento da perfusão sanguínea bilateralmente na ínsula anterior, com maior intensidade no hemisfério direito, e no córtex cingulado anterior/frontomedial do hemisfério direito. Aumentos adicionais foram observados na amígdala esquerda/giro para-hipocampal. Sugeriram que essas ativações de regiões cerebrais estão associadas a sistemas neurais envolvidos na interocepção e no processamento emocional, desempenhando papel na neurotransmissão serotoninérgica desses processos.

CASTRO-NETO *et al.* (2013) avaliaram as alterações da ayahuasca na neurotransmissão, e para isso, os níveis de monoaminas *post-mortem* no hipocampo e

amígdala foram quantificados em 3 grupos de ratos, com 8 animais cada, tratados com ayahuasca via gavagem nas doses de 250, 500 e 800 mg/kg. Os resultados revelaram que o ácido gama-aminobutírico (GABA) foi aumentado no hipocampo, independente da dose, e a serotonina também foi aumentada nas doses de 500 e 800 mg/kg. Na amígdala, nas doses mais baixas, o GABA aumenta e nas doses mais altas diminui, já os níveis de noradrenalina, serotonina e dopamina foram aumentados em todas as doses testadas.

Com a intenção de investigar a função cerebral sob a influência da ayahuasca VIOL *et al.* (2017) realizaram experimento com 9 mulheres voluntárias experientes, com pelo menos 5 anos de uso (duas vezes por mês), que fizeram a ingestão aguda de 120-200 mL do chá de ayahuasca com (0,8 mg/mL de DMT e 0,21 mg/mL de harmina). As voluntárias foram submetidas à ressonância magnética funcional, que permite uma investigação não invasiva da atividade cerebral global (considerando o cérebro inteiro), que foram realizadas com os cérebros em repouso, estado de vigília normal ou após 40 minutos de ingestão do chá de ayahuasca. Como resultado houve aumento do cálculo da entropia de Shannon para distribuição de graus das redes complexas após a ingestão da ayahuasca. A hipótese do cérebro entrópico tem sido estudada com os psicodélicos e estudos indicam que esses são responsáveis por aumentarem a entropia de conectividade funcional (TAGLIAZUCCHI *et al.*, 2014). A hipótese do cérebro entrópico fornece um índice quantitativo da desordem de um sistema dinâmico. No contexto do cérebro, o aumento da incerteza acompanha aumento da entropia do sistema. De acordo com essa teoria, o cérebro em estado normal de vigília é caracterizado por uma organização funcional rígida e previsível, enquanto estados alterados de consciência, como aquele induzido por ayahuasca, há um aumento na entropia cerebral. Isso se traduz em uma maior conectividade e interação entre regiões do cérebro que, normalmente, não estão fortemente conectadas, sendo assim, os resultados com ayahuasca mostraram ser promissores.

3.4.9- Citotoxicidade

Estudos realizados por SIMÃO *et al.* (2020) avaliaram os efeitos citotóxicos de compostos presentes na ayahuasca em linhagens celulares de neurônios dopaminérgicos (N27). As preparações utilizadas foram: amostras individuais (*P.viridis*, *B.caapi*, *M.hostilis* e *P.harmala*), 4 misturas (*P.viridis* e *B.caapi*; *P.viridis* e *P.harmala*; *B.caapi*

e *M.hostilis*; *M.hostilis* e *P.harmala*) e 1 mistura comercial. A viabilidade celular foi avaliada usando o kit *counting cell* e a quantificação de proteína foi realizada pelo kit de proteína de ácido bicinconínico (BCA). Os resultados, no geral, mostraram que em concentrações elevadas ocorre diminuição da viabilidade celular que foi acompanhada pela diminuição do conteúdo proteico celular total, então, ocorre uma potencial indução de toxicidade neuronal dopaminérgica em células N27.

3.5.0- Função hepática

MELLO *et al.* (2018) avaliaram os parâmetros bioquímicos relacionados a função hepática no soro de 22 voluntários frequentadores da “Luz do Vegetal” que utilizavam a ayahuasca em seus rituais religiosos. O fígado é o principal órgão na metabolização e desintoxicação de drogas via trato gastrointestinal, sendo assim, por ser suscetível a lesão, a investigação de alteração dos seus parâmetros durante uso crônico da ayahuasca se mostrou importante. Os voluntários fizeram a ingestão da ayahuasca, duas ou mais vezes por semana ao longo de 1 ano e não houve alteração significativa nos seguintes parâmetros: alanina aminotransferase, aspartato aminotransferase, bilirrubina, creatinina, ureia, lactato desidrogenase, fosfatase alcalina e gama glutamil transferase, não afetando a função hepática dos voluntários.

3.5.1- Biodisponibilidade/bioacessibilidade

GONÇALVES *et al.* (2021) avaliaram a bioacessibilidade (quantidade de um composto que é libertada de uma matriz, ficando disponível para ser absorvida, após ingestão e consequente digestão) e a biodisponibilidade (a fração que chega à corrente sanguínea e que, após metabolização e distribuição, produz um efeito) dos principais componentes da ayahuasca nas células da linhagem Caco-2 (carcinoma do cólon humano). Durante a simulação, *in vitro*, da digestão, os compostos foram liberados tornando-se bioacessíveis e foram absorvidos pela monocamada celular tornando biodisponíveis, em concentrações menores do que as iniciais. Já os compostos do extrato que não passaram pela digestão *in vitro* também tornaram-se bioacessíveis, então, a digestão não é essencial para a absorção. Foi realizado o teste de citotoxicidade pelo ensaio de MTT que não apresentou diminuição da viabilidade celular. A integridade da monocamada celular foi avaliada pelo ensaio de TEER (resistência elétrica da membrana transendotelial) e não houve alteração. A permeabilidade da monocamada celular foi avaliada pelo ensaio de *Lucifer Yellow* e não alterou a

permeabilidade celular. De modo geral, a característica dos compostos após a incubação com a ayahuasca indicou que os compostos analisados conseguiram atravessar a monocamada celular.

3.5.2- Potencial antitumorigênico

Há um interesse crescente na descoberta de novos agentes antitumorais a partir de recursos naturais. Mais de 46% (98/211) dos medicamentos aprovados e candidatos a novos medicamentos (excluindo produtos biológicos) para terapia do câncer pela *Food and Drug Administration* eram de origem natural durante o período de 1989 a 1995 (QI CHEN *et al.*, 2005).

Em 2010 foi publicado uma revisão de SCHMID e colaboradores que investigaram pessoas que experimentaram a ayahuasca como tratamento para diferentes doenças, incluindo o câncer. Foram identificados quatro pacientes com câncer (próstata, uterino, mioma e estômago). Esse estudo não continha muitos detalhes sobre os pacientes, os casos foram classificados: câncer de próstata sem efeito, câncer uterino (tumor maligno) recuperação completa, mioma (tumor benigno) o pior caso e o câncer de estômago irreparável. Importante destacar que todos os pacientes declararam que a ayahuasca impactou positivamente na vida dos indivíduos contribuindo para o bem-estar geral.

Existem relatos não científicos e alguns relatos de casos descrevendo ação antitumoral da ayahuasca. TOPPING em 1999 iniciou os relatos de caso, descrevendo a ajuda da ayahuasca no seu câncer em metástase. Professor da Universidade do Havaí Donald Topping que foi diagnosticado com câncer de cólon aos 58 anos. O professor recebeu a indicação de uma cirurgia imediata, porém, resolveu fazer seu tratamento com uma abordagem natural (incluindo dieta vegetariana, exercícios físicos, repouso e ingestão de substâncias naturais) após duas semanas desse novo estilo de vida sua melhora na condição física surpreendeu os médicos. O professor Topping fez a cirurgia e foi curado. No entanto, tempos depois, foi detectado câncer de fígado, retirou parte do órgão e foi indicada a quimioterapia. Topping se negou a fazer e começou seu tratamento com sessões de ayahuasca, fez duas sessões na Igreja do Santo Daime e duas sessões de cura xamânica no Peru. Voltou ao oncologista e o câncer metastático estava em remissão. Donald Topping morreu aos 73 anos.

Segundo SCHENBERG, (2013) existem nove relatos de casos de pacientes com câncer (mama, próstata, cólon, ovário, útero, ovário e cérebro) que usaram o chá de ayahuasca durante seus tratamentos. Três desses casos apresentaram melhoras

comprovadas por exames e os outros casos os pacientes relataram que sobreviveram mais do que o previsto por seus médicos.

Os efeitos específicos da ayahuasca nos diferentes tipos de câncer podem também variar dependendo do subtipo predominante da MAO. Sendo assim, além da inibir a MAO em diferentes tecidos permitindo a ação sinérgica β -carbolinas e DMT sobre o sistema serotoninérgico a inibição da MAO pode também interferir em vias apoptóticas e ter ação antitumoral. É possível também que a experiência psicodélica por si ajude no alívio de sintomas psicológicos como ansiedade e depressão, e isto resulte então em melhora na qualidade de vida do paciente com câncer (SCHENBERG, 2013).

3.5.3- β -carbolinas como agentes antitumorais

Os principais princípios ativos na ayahuasca são a β -carbolinas (principalmente harminas), que além de impedir a degradação do DMT pelas monoaminas oxidases (principalmente MAO-A), permitindo assim que o DMT chegue à circulação, harminas tem mostrado um efeito direto em células tumorais.

Como o câncer é uma preocupação de saúde mundial, sendo uma doença cujo tratamento atual gera efeitos colaterais importantes, além do rápido surgimento de resistência e alto custo dos medicamentos, desenvolver alternativas seguras e eficazes para o tratamento tem sido o alvo de muitas pesquisas. Nesse sentido, os fitoquímicos estão se destacando como futuros possíveis medicamentos anti-câncer multi-alvos (interferindo em diferentes e/ou várias etapas do ciclo celular) com maior segurança, eficácia, potência e menos efeitos colaterais/tolerância (AHMAD *et al.*, 2020).

ISHIDA *et al.* (1999) avaliaram 26 β -carbolinas quanto a citotoxicidade *in vitro* em um painel de linhagens tumorais. As β -carbolinas demonstraram atividade significativa contra varias linhagens incluindo tumores resistentes a medicamentos tradicionais. Harmina mostrou potente atividade citotóxica nos tumores: carcinoma epidermóide de nasofaringe, carcinoma pulmonar, carcinoma renal, câncer de ovário e fibroblasto pulmonar embrionário.

CAO *et al.* (2004) com a intenção de entender as β -carbolinas sintetizaram novos derivados e 37 deles foram examinados quanto a citotoxicidade, utilizando ensaio de MTT em linhagens tumorais humanas (câncer de pulmão de Lewis e Sarcoma 180). A maioria desses derivados apresentaram significativas atividades citotóxicas. Para avaliar a toxicidade aguda os derivados de β -carbolinas foram administrados via intraperitoneal em camundongos portadores desses tumores e todos apresentaram efeitos tóxicos

agudos notáveis. Para avaliar a atividade antitumoral dos derivados de β -carbolinas, os camundongos portadores de câncer de pulmão de Lewis e Sarcoma 180 foram tratados por 7 dias consecutivos com cada composto (i.p.) na dose de 7,5 mg/kg. Harmina mostrou efeito antitumoral moderado, com taxa de inibição tumoral de 34% no câncer de pulmão de Lewis e 15% no Sarcoma 180, no entanto, todos os derivados de β -carbolinas 9-substituídos exibiram atividade antitumoral mais potente.

Continuando os estudos nessa mesma linha de pesquisa e colaboradores (2005) investigaram os efeitos antitumorais e a toxicidade aguda em camundongos de 9 β -carbolinas. A citotoxicidade *in vitro* foi avaliada pelo ensaio de MTT e os compostos apresentaram significativas atividades citotóxicas. Os camundongos foram tratados com cada composto na dose de 7,5 mg/kg por 7 dias consecutivos. Todos os compostos testados mostraram efeitos antitumorais marcantes nos camundongos portadores de câncer de pulmão de Lewis, Sarcoma 180 ou tumor HepA (carcinoma hepatocelular) porém com efeitos neurotóxicos marcantes (tremores, espasmos e pulos). A harmina mostrou efeito antitumoral moderado, mas seus derivados substituídos 5, 6 e 8 apresentaram taxa de inibição de mais de 40% nos tumores estudados, destaca-se o composto 6 substituído com a maior taxa de inibição, 49,5% nos tumores de fígado. A análise por citometria de fluxo mostrou acentuados efeitos apoptóticos da harmina e seus derivados em células tumorais hepáticas com mudanças morfológicas observadas por coloração nuclear. Esse estudo mostrou, por citometria de fluxo, que harmina e seus derivados regulam negativamente o gene Bcl-2 (reguladores de apoptose ao atuarem nas mitocôndrias) e regulam positivamente Fas (moduladores de apoptose).

Com a intenção de investigar a atividade da harmina na angiogênese HAMSA & KUTTAN (2010) administraram (i.p.) 10 mg/kg de peso corporal de harmina por 5 dias consecutivos em camundongos portadores de melanoma. A angiogênese foi avaliada contando os vasos em microscópio e os animais tratados com harmina apresentaram redução significativa do número de capilares direcionados ao tumor (51,32%). No soro desses animais foram quantificados fatores pró-angiogênicos e citocinas pró-inflamatórias. Os níveis de interleucinas (IL-1 β e IL-6), fator de necrose tumoral (TNF- α), fator angiogênico (VEGF) e fator estimulante de colônia de granulócitos (GM-CSF) diminuíram em animais tratados com harmina, ao mesmo tempo que, interleucina (IL-2) e inibidores teciduais de metaloproteinases (TIMP) aumentaram, assim concluíram que a harmina possui efeito relevante na angiogênese e inflamação.

A linhagem tumoral B16F-10 (melanoma) foi tratada com harmina em diferentes doses em estudo de HAMSA & KUTTAN (2011). A harmina induziu a apoptose das células tumorais que foi confirmada por alterações morfológicas como condensação de cromatina e fragmentação de DNA, além de outros ensaios como TUNEL e citometria de fluxo que obtiveram o mesmo resultado apoptótico. A análise RT-PCR mostrou que a harmina induziu a apoptose em células de melanoma B16F-10 ao regular positivamente Bax e ativar Caspase-3, 9 e p53 e regular negativamente Bcl-2. A harmina também regulou positivamente Caspase-8 e Bid, indicando que a harmina afetou as vias extrínsecas e intrínsecas da apoptose. Este estudo também mostrou efeitos inibitórios da harmina em alguns fatores de transcrição e citocinas pró-inflamatórias que protegem as células da apoptose. A harmina inibiu o crescimento celular com parada em G₁ e reduziu a transição para as fases S e G₂/M do ciclo celular, quando a exposição das células à harmina foi por 48 horas resultou no acúmulo de células na fase sub-G₀/G₁ de maneira dependente da dose.

YANG *et al.* (2011) sintetizaram derivados de β -carbolinas e analisaram a citotoxicidade e atividade anti-inflamatória em diferentes células tumorais (pulmão, próstata e nasofaringe). A maioria dos compostos testados não mostraram forte citotoxicidade e apresentaram potente atividade anti-inflamatória.

IKEDA *et al.* (2012) sintetizaram 47 tipos de β -carbolinas e avaliaram suas atividades antitumorais frente as linhagens celulares Hela S-3, Sarcoma 180 e 293T. O ensaio de fragmentação do DNA sugeriu que esses compostos induziram a morte celular por apoptose estabelecendo que a via da morte foi por meio da parada do ciclo celular na fase G₂/M. Foi notado que a introdução de um anel piridil como substituinte contra as linhagens tumorais revelou ligeira diminuição da atividade antitumoral enquanto que a introdução do grupo alquil resultou em aumento da hidrofobicidade que como consequência aumenta a permeabilidade da membrana celular e o potencial antitumoral.

Com a intenção de investigar o potencial de inibição de β -carbolinas nas cinases polo semelhantes (PLK-1) HAN *et al.* (2012) sintetizaram 18 compostos de β -carbolinas e testaram nas linhagens de osteosarcoma, câncer hepático, cervical e de próstata. As PLK-1 atuam em varias etapas do ciclo celular e são altamente expressas em células cancerígenas em proliferação, portanto, um alvo para terapia antitumoral. Dos compostos testados, 4 se destacaram apresentando inibição significativa do crescimento celular nas 4 linhagens tumorais testadas, maiores pontuações de encaixe virtual com PLK-1, induziram a formacao de fuso monopolar e aumentaram o nível de

proteína Wee 1 (substrato de PLK-1), que são características de células tratadas com inibidores de PLK-1. A citometria foi realizada para as células tumorais cervicais que indicou acúmulo de células nas fases S e G2/M. Todos esses resultados juntos sugerem que essas β -carbolinas são novos inibidores de PLK-1 com potencial tratamento anti-câncer.

Como estratégia para terapia do câncer surgiram novos estudos sobre a p53. O supressor tumoral p53 desempenha um papel fundamental na regulação ciclo celular, apoptose, reparo de DNA e senescência em resposta a diversos estímulos de estresse, incluindo danos no DNA, oncogênese, ativação e hipóxia. O p53 atua como um fator de transcrição e ativa vários genes para exercer funções específicas envolvidas no desenvolvimento tumoral. Devido ao alto potencial da p53 em provocar apoptose ou parada no crescimento das células, a reativação farmacológica da p53 supressor de tumor é uma estratégia promissora para terapia anti-câncer. Estudos realizados por FUNJUN *et al.* (2012) identificaram a harmina como um novo ativador da via da p53 e caracterizou sua ação como antiangiogênica e antitumoral devido a seus efeitos na via de sinalização de p53 em células endoteliais.

Novos híbridos de tetra-hidro- β -carbolinas foram sintetizados por SHANKARAIAH *et al.* (2014) e avaliados quanto a sua atividade anti-câncer nas linhagens celulares de câncer de próstata, pulmão, cervical e mama. Os resultados do ensaio de MTT mostraram que os compostos exibem citotoxicidade significativa contra os cânceres de pulmão, próstata e mama. Os resultados para o câncer de próstata foram mais eficientes e assim os ensaios de citometria mostraram parada do ciclo celular no G2/M indicando inibição do crescimento celular.

WANG *et al.* (2015) avaliaram o potencial antitumoral da harmalina e para isso trataram células tumorais gástricas (SGC-7901) com diferentes concentrações de harmalina por 48 horas. O ensaio de MTT foi realizado e a proliferação das células foi inibida de maneira dose dependente. A morte de SGC-7901 foi característica de apoptose com alterações morfológicas como condensação nuclear e bolhas de membrana. Para ampliação desses resultados foram realizados ensaios *in vivo* em que camundongos portadores de cancer gástrico (SGC-7901) receberam diferentes doses de harmalina com destaque para as duas maiores doses (15 e 30 mg/kg/dia) em que o crescimento dos tumores foram inibidos de maneira dose dependente. Apenas a dose de 30 mg/kg/dia mostrou toxicidade animal com redução do peso e leucócitos e aumento do nível de ALT. A análise das expressões gênicas dos tumores mostraram aumento

significativo nas expressões dos genes ligados a regulação do ciclo celular: p-21, p-Cdc2, redução p-Cdc25C e regulação positiva das expressões de Fas/FasL, caspases 3 e 8, assim, sugeriram que a harmalina induz apoptose por parada do ciclo celular.

Com a intenção de conseguir maior eficácia anticâncer e atingir simultaneamente múltiplas vias LING *et al.* (2017) sintetizaram uma combinação de β -carbolinas (derivadas de ácido hidroxâmico) com inibidores de histonas desacetilase (HDACi). As enzimas histonas desacetilases são superexpressas em vários tipos de câncer, associadas à tumorigênese e ao desenvolvimento de tumores. Os novos compostos foram testados *in vitro* contra as linhagens de câncer de cólon humano, carcinoma hepatocelular humano e células de adenocarcinoma de mama humano. A maioria dos derivados de β -carbolinas mostraram efeitos inibitórios às histonas desacetilases e também exibiram atividades antitumorais. O composto (12f) se destacou mostrando maior potência anticâncer frente às linhagens testadas e prendeu as células de carcinoma hepatocelular na fase G2/M por meio da inibição da proteína CDK1 e ciclina B, de maneira dependente da concentração.

CHEN *et al.* (2019) sintetizaram 28 novas β -carbolinas heterobivalentes e avaliaram o potencial citotóxico *in vitro* em 5 linhagens tumorais (carcinoma pulmonar de Lewis, carcinoma gástrico, carcinoma de cólon murino, carcinoma hepático e carcinoma de mama). A maioria dos compostos mostrou atividade antiproliferativa média contra as linhagens de células cancerígenas testadas, em destaque o composto 8z que apresentou os melhores resultados. Esses compostos também foram testados *in vivo* na neovascularização em membrana corioalantóide de galinha e o mesmo composto (8z) na concentração de 5 μ M inibiu a formação de vasos sanguíneos em 45% com resultado próximo ao grupo controle positivo.

Assim, considerando o potencial farmacológico dos princípios ativos do chá de ayahuasca (fontes promissoras de moléculas biologicamente ativas) esse trabalho teve como objetivo preencher as lacunas científicas e contribuir para a investigação do potencial do chá de ayahuasca em linhagens tumorais *in vitro* e *in vivo*.

4.0 – OBJETIVOS

O principal objetivo deste trabalho é avaliar os efeitos da exposição ao chá ayahuasca em linhagens tumorais *in vitro* e em modelo experimental de tumor *in vivo*.

4.1– Objetivos específicos

- Determinar os níveis de DMT, harmina e harmalina presentes no chá de ayahuasca.
- Investigar o efeito *in vitro* do chá de ayahuasca na viabilidade e citotoxicidade por exposição ao MTT nas linhagens tumorais B16F10 (melanoma murino), U87MG (glioblastoma humano), MCF7 (mama humano) e na linhagem NIH3T3 (não tumoral de fibroblastos murino - controle);
- Determinar o IC₅₀ do chá de ayahuasca em 24 horas de exposição nas linhagens tumorais B16F10 (melanoma murino), U87MG (glioblastoma humano), MCF7 (mama humano) e NIH3T3 (linhagem não tumoral de fibroblastos murino - controle) por ensaio de MTT;
- Avaliar os efeitos do chá de ayahuasca na integridade da membrana celular por ensaio de coloração do Azul de Tripan nas linhagens tumorais B16F10 (melanoma murino), U87MG (glioblastoma humano), MCF7 (mama humano) e NIH3T3 (linhagem não tumoral de fibroblastos murino - controle);
- Avaliar os efeitos do chá de ayahuasca na integridade do DNA e no ciclo celular nas linhagens tumorais B16F10 (melanoma murino), U87MG (glioblastoma humano), MCF7 (mama humano) e NIH3T3 (linhagem não tumoral de fibroblastos murino - controle) utilizando citometria de fluxo;
- Investigar o efeito do chá de ayahuasca no processo de morte celular por citometria de fluxo em células B16F10 (melanoma murino), U87MG (glioblastoma humano), MCF7 (mama humano) e NIH3T3 (linhagem não tumoral de fibroblastos murino - controle);
- Avaliar o potencial antitumorigênico do chá de ayahuasca no modelo experimental de tumor *in vivo* pela indução melanoma murino em camundongos C57BL/6 com tratamento por gavagem em diferentes doses por 10 dias iniciando no 7º dia após a inoculação do tumor;
- Investigar possível efeito tóxico a exposição ao chá de ayahuasca com avaliação clínica dos animais (sinais, sintomas e peso dos animais), análise hematológica, análise bioquímica e análises histopatológicas.

5.0- METODOLOGIA

5.1- Amostras do chá de ayahuasca

O chá de ayahuasca utilizado para o tratamento dos animais deste trabalho foi cedido pelo grupo União do Vegetal com sede em Brasília-DF. Cerca de 30L de chá da ayahuasca foi preparado pelo Núcleo Luz do Oriente, da União do Vegetal em maio de 2011 e fornecido ao Laboratório de Toxicologia da UnB para a realização de projetos. O material, armazenado em frascos de 2L, foi mantido no freezer a -20°C até sua utilização. Cerca de 10L deste material foi liofilizado (Liotop L101), fornecendo material seco que foi diluído no dia no experimento, de acordo com as doses administradas. Porções menores do chá, previamente pesadas, foram liofilizadas para determinar a densidade do material, que foi determinada como 0,1615 g/mL.

5.2- Caracterização química

Os níveis de DMT, harmina e harmalina presentes no chá de ayahuasca foram determinados, no ano de 2020 para a realização desse projeto, por LC-MS/MS com a colaboração do Laboratório de Toxicologia da UnB. Padrões de harmalina (95% pureza) e harmina (98% pureza) foram obtidos da Sigma Aldrich. Por ser uma substância proscrita no Brasil e em diversos países no mundo, não foi possível a aquisição comercial do DMT e THH, que foram sintetizados pela Doutoranda Beatriz Werneck Lopes Santos com a orientação da Prof^a. Maria Lucília Santos, do Instituto de Química da UnB e utilizados neste estudo.

Amostras de Ayahuasca foram diluídas 750 vezes em água purificada e analisadas por LC-MS/MS com um sistema Shimadzu LC (Shimadzu, Kyoto, Japan) acoplado a um espectrômetro de massas 4000 Qtrap triple-quadrupole (Sciex, Framingham, MA, USA), com fonte de ionização do tipo eletrospray Turbo Ion Spray. A análise foi feita com monitoramento de reações múltiplas (MRM) no modo positivo, as duas transições mais abundantes detectadas (precursor/produto) foram usadas para quantificação e confirmação. A cromatografia foi feita com uma coluna Luna C18 (150×2 mm, 5 µm) precedida de uma pré-coluna C18 (4.0×3.0 mm, 5 µm), ambas da Phenomenex® (Torrance, CA, USA). A coluna foi mantida a 40°C com vazão de 0.4 mL/min e volume de injeção de 1 µL. A fase móvel foi 85% *water* (A) e 15% ACN (B), ambas adicionadas de 0.1% ácido fórmico.

5.3 – Ensaios *in vitro*

Para os ensaios *in vitro*, foram utilizadas as linhagens celulares imortalizadas de B16F10 (melanoma maligno murino), U87MG (glioblastoma humano), MCF7 (mama humano) e NIH3T3 (fibroblastos não tumorais murino) utilizada como controle. As células foram obtidas do banco de células *American Type Culture Collection* (ATCC) adquiridas no banco de células do Rio de Janeiro, BCRJ, Brasil. As alíquotas utilizadas foram cedidas pelo Laboratório de Nanobiotecnologia do Instituto de Biologia da UnB liderado pelo professor Ricardo Bentes de Azevedo e estavam armazenadas em tanques de nitrogênio líquido neste laboratório.

Todos os procedimentos *in vitro* foram realizados em cabine biológica, previamente limpa com álcool 70% e esterilizada com luz UV por 15 minutos. Todos os materiais envolvidos nos ensaios eram novos e esterilizados em autoclave.

As células foram descongeladas rapidamente a 37°C e incubadas em estufa (Thermo Fisher Scientific) a 37°C, 5% de CO₂ e 70 – 80% de umidade, simulando ambiente ideal de crescimento para serem mantidas em cultura em garrafas de 75 cm². Todas as linhagens celulares foram cultivadas em garrafas apropriadas com filtro e receberam meio DEMEM (*Eagle modificado por Dulbecco*) (Gibco[®] Life Technologies, LTDA, EUA) tamponado com 3,7 gramas de bicarbonato de sódio ao pH 7,2. O meio DEMEM foi suplementado com 10% de soro fetal bovino (FBS) para as linhagens celulares: B16F10, U87MG e MCF7 e soro de bezerro (Gibco[®] Invitrogen[™], EUA) para a linhagem celular NIH3T3 e 1% de antibiótico (penicilina e estreptomicina) (Gibco[®] Invitrogen[™], EUA).

As culturas celulares eram analisadas diariamente em microscópio óptico de luz invertida (Olympus Optical) com o objetivo de acompanhar o desenvolvimento celular, identificar qualquer mudança nas características morfológicas e detectar possíveis contaminações bacterianas ou fúngicas. O meio de cultura era substituído três vezes por semana, a fim de assegurar que os nutrientes necessários para o desenvolvimento células, estariam sempre disponíveis.

Quando as culturas atingiam 80% de confluência, com o objetivo de manutenção das subculturas, as células foram removidas do frasco de cultura e recultivadas com densidade menor. Para isso, o meio era descartado (contendo células mortas e detritos), as células eram lavadas com PBS e em seguida eram tripsinizadas (adição de tripsina: Tripsina 0,25% – EDTA, uma enzima que hidrolisa as ligações peptídicas) para a remoção da monocamada. Logo em seguida as células eram incubadas por 3 minutos

em estufa a 37°C e 5% de CO₂. Após observação em microscópio de luz invertida e constatação que as células estavam soltas, a tripsina era neutralizada com meio de cultura e a suspensão era transferida para tubos tipo falcon de 15 mL e centrifugadas (Oleman 90-1) por 5 minutos a 2 mil rpm. O sobrenadante era descartado e o *pellet* de células era ressuscitado em 1 mL de meio de cultura DEMEM completo.

Para determinar o número de células, em um microtubo foram adicionados 10 uL da suspensão de células descrita acima e 40 uL de solução do corante azul de tripan (0,4%, p/v, Sigma, EUA, diluídos em PBS). Desta solução foi retirado 10 uL e colocados em hemocitômetro de *Neubauer*. Foram contadas as células viáveis dos quatro quadrantes laterais e as que tocam as linhas de cima e à esquerda, em microscópio de luz invertida.

A concentração de células foi determinada por meio da equação abaixo, aproximadamente, 10% das células eram recultivadas em frascos de cultura e incubadas em estufa a 37°C e 5% de CO₂.

$$\frac{\text{NÚMERO DE CÉLULAS CONTADAS}}{\text{NÚMERO DE QUADRANTES CONTADOS}} \times \text{FATOR DE DILUIÇÃO} \times 10.000 = \text{NÚMERO TOTAL DE CÉLULAS/ mL}$$

O restante das células foi utilizado em experimentos ou recebeu a adição de hipoclorito de sódio e detergente e, foram descartados. Os experimentos foram realizados com as células na fase logarítmica de crescimento.

Para cada linhagem de células utilizadas neste estudo foi determinado um limite máximo de 10 passagens para a formação de subculturas. Após este limite, as células eram descartadas. Um estoque de células foi mantido mediante o congelamento, nessa etapa, as células foram tripsinizadas, centrifugadas e ressuscitadas em 1 mL de meio completo para sua contagem em hemocitômetro de *Neubauer*. Os cálculos eram realizados, conforme equação já mencionada, buscando uma concentração final de células para congelamento de 1.10^6 células (ressuscitadas em solução de congelamento (95% soro fetal bovino e 5% de dimetilsulfóxido (DMSO)) (Macron™ Chemicals, Avantor™ Performance Materials, Inc., EUA)) em cada criotubo. Os criotubos foram devidamente identificados mantidos a -80°C por 24 horas no Mr Frosty (Thermo Scientific) e após esse período foram estocados em nitrogênio líquido.

5.3. 1 - Ensaio de viabilidade celular - MTT

O ensaio de MTT foi escolhido/realizado para avaliar a viabilidade e citotoxicidade celular. O MTT é um ensaio colorimétrico baseado na avaliação da atividade do metabolismo celular. É um método comumente aplicado para avaliação da viabilidade celular e citotoxicidade para triagem das drogas. Avalia-se a taxa de proliferação celular e, quando existem eventos metabólicos que levem a apoptose ou necrose, avalia-se então a redução na viabilidade celular.

O efeito do chá ayahuasca na viabilidade de células tumorais murinas B16F10 (melanoma murino), células não tumorais de fibroblasto murino NHI3T3, humanas MCF7 (câncer de mama humano) e U87MG (glioblastoma humano) foram realizados utilizando este ensaio (MOSMANN, 1983).

O mecanismo bioquímico (figura 8) por trás do teste MTT envolve enzima oxidoreductase celular dependente de NAD (P) H que converte o tetrazólio amarelo MTT [3- (4, 5-brometo de dimetiltiazolil-2) -2,5-difeniltetrazólio] em (E, Z) -5- (4,5-dimetiltiazol-2-il) – insolúvel 1,3-difenilformazan (formazan) (BAHUGUNA *et al.*, 2017). O produto final da redução de MTT é um formazan de cor púrpura que pode ser facilmente dissolvido em DMSO. As células saudáveis e de rápido crescimento exibem altas taxas de redução de MTT para formazan enquanto as células inativas não conseguem fazê-lo. A viabilidade no ensaio MTT está relacionada com a quantificação de formazan que é lido em espectrofotômetro de 540 a 595 nanômetros e está linearmente associado à atividade enzimática e indiretamente ao número de células viáveis. A alta intensidade de cor púrpura indica maior viabilidade celular enquanto a diminuição na intensidade da cor púrpura significa um número reduzido de células e, portanto, a citotoxicidade da substância em questão.

Figura 8: Mecanismo bioquímico do MTT.

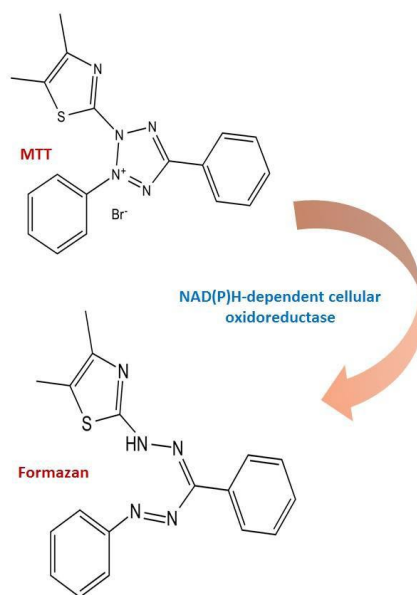


Figura 8: Mecanismo bioquímico do MTT.

Fonte: BAHUGUNA *et al.*, 2017.

Quando as células incubadas atingiram 80% de confluência foram plaqueadas, em placas de 96 poços, em triplicatas, com densidades específicas de acordo com a característica individual de cada grupo celular. Levando em consideração que cada linhagem celular apresenta uma taxa de crescimento e proliferação, as células foram semeadas em concentrações específicas para garantir que no dia do tratamento com o chá de ayahuasca haveria uma confluência de aproximadamente 60-70% por poço e no dia do teste de viabilidade 70-80%, sendo assim, foram semeadas 3 mil células de B16F10, 5 mil células MCF7, 10 mil células de U87MG e NIH3T3 que foram incubadas em estufa a 37°C e 5% de CO₂ com meio DEMEM.

O plaqueamento (figura 9) das células foi realizado 24 horas antes do início da experimentação já que as células precisam aderir à placa e atingir o equilíbrio metabólico para que o tratamento seja realizado. Sendo assim, meio de cultura inicial foi aspirado e substituído por 150 uL de meio de cultura com diferentes concentrações de chá ayahuasca escolhidas baseadas em testes piloto (0,005 mg/mL, 0,05 mg/mL, 0,5 mg/mL, 1 mg/mL, 2,5 mg/mL, 3,5 mg/mL, 4 mg/mL, 5 mg/mL), controle positivo (cisplatina) e controle negativo (meio). 24 horas após o tratamento, a substância teste foi aspirada e adicionados 150 uL de solução de MTT (5 mg/mL, Invitrogen, EUA) e meio de cultura na proporção de 1:10 a cada poço, protegido da exposição da luz. Após 2 (duas) horas de incubação, o meio foi descartado e os cristais de formazan dissolvidos em 150 µL de DMSO (dimetilsulfóxido), procedimento realizado em capela química.

Figura 9: Esquema do ensaio MTT.

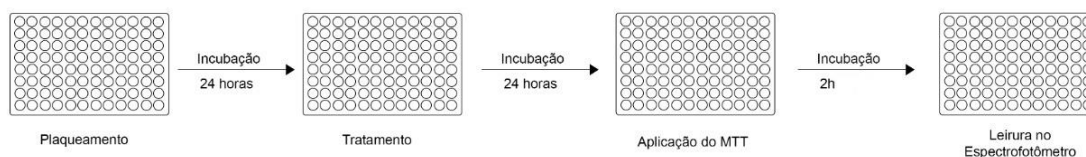


Figura 9: Esquema do ensaio MTT.

Fonte: Luciana Gueiros, julho de 2019.

A figura 10 ilustra a placa utilizada no último dia do experimento. A análise da viabilidade em cada poço foi realizada por meio de leitura de absorbância em comprimento de onda 595 nm (nanômetros) em espectrofotômetro.

Figura 10: Representação da placa de 96 poços.



Figura 10: Exemplo visual do resultado de um ensaio de MTT, mostrando a formação de metabólito formazan e indicando a viabilidade celular. Placa de 96 poços utilizada nos ensaios de MTT.

Fonte: Luciana Gueiros, agosto 2019.

Ressalta-se que no mínimo 9 (nove) replicatas foram analisadas para cada condição experimental, já que foram feitos experimentos independentes em triplicata para cada dosagem. A viabilidade celular foi expressa em porcentagem sendo normalizada em relação à absorbância avaliada no grupo controle e representada em gráficos de linhas.

A partir do teste de MTT foi obtido o IC_{50} (concentração citotóxica para 50% das células) no programa estatístico *GraphPad Prism 9.0*. A partir daí foi estabelecido às concentrações a serem utilizadas para os ensaios posteriores.

5.3.2- Ensaio de viabilidade celular – Azul de Tripán

Para avaliar a citotoxicidade mensurando a viabilidade celular pela integridade da membrana celular escolhemos o ensaio de exclusão utilizando o corante azul de tripan. Esse ensaio consiste no fato que as células mortas absorvem o corante para seu citoplasma por perda de seletividade da membrana enquanto as células vivas possuem membranas celulares intactas, assim é possível estabelecer uma relação entre células mortas e vivas contadas no hemocitômetro de *Neubauer* (STROBER, 2015).

O ensaio foi realizado da seguinte forma: os tipos celulares foram cultivados em placas de 24 poços com as densidades de 18 mil células B16F10, 30 mil células de MCF7 e 60 mil células de U87MG e NIH3T3 por poço e incubadas em estufa a 37°C e 5% de CO₂. Após 24 horas os meios de cultura foram aspirados e os tratamentos adicionados (diferentes doses do chá de ayahuasca, levando em consideração o IC₅₀ de cada tipo celular) controle positivo (cisplatina) e controle negativo (meio). Todos os tratamentos foram feitos em triplicatas. Após 24 horas os tratamentos foram aspirados, o sobrenadante foi colocado em microtubos de polipropileno de 1,5 mL previamente nomeados e as células aderidas foram tripsinizadas e colocadas em seus microtubos correspondentes. As células foram centrifugadas (Eppendorf 5415R) a 2 mil rpm por 5 minutos a 4°C. Corante azul de tripan (0,4% em PBS – Sigma, EUA) foi adicionado a pequeno volume da suspensão de células e procedeu-se a contagem das células, viáveis e não viáveis, nos 4 quadrantes laterais do hemocitômetro de *Neubauer*. Os resultados foram representados como viabilidade celular em porcentagem e calculados pela equação:

$$\text{VIABILIDADE CELULAR (\%)} = \frac{\text{CÉLULAS VIVAS}}{\text{TOTAL DE CÉLULAS}} \times 100$$

5.3.3 – Ensaios por citometria de fluxo (FACS)

A citometria de fluxo é uma tecnologia que permite a análise simultânea de vários parâmetros (físicos, químicos e biológicos) de células ou partículas em uma suspensão líquida, enquanto passam individualmente em um fluxo contínuo através de um feixe de luz. A partir de um feixe de luz incidente é feita a medição da dispersão e da fluorescência do feixe refletido pela amostra celular. É uma poderosa ferramenta para separação, contagem individual de células e detecção de biomarcadores proteicos (BRAGA *et al.*, 2016). As análises deste trabalho foram realizadas em um citômetro

fluxo (BD FACSFortessa TM, EUA) do departamento de Imunologia Celular da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília.

Todos os experimentos em citometria de fluxo seguiram o seguinte protocolo: as células foram plaqueadas (placas de 24 poços com fundo chato) de acordo com as densidades de 18 mil células B16F10, 30 mil células de MCF7 e 60 mil células de U87MG e NIH3T3 por poço e incubadas em estufa a temperatura de 37°C e 5% de CO₂. Após 24 horas os meios de cultura foram aspirados e os tratamentos adicionados (diferentes doses do chá de ayahuasca), de acordo com o IC₅₀ de cada tipo celular, controle positivo (cisplatina) e negativo (meio). Todos os tratamentos foram feitos em triplicatas e durante as análises por citometria de fluxo (FACS) 10.000 eventos foram adquiridos para cada amostra e cada experimento. A análise dos dados foi feita pelo *software FlowJo*.

5.3.3.1- Fragmentação de DNA

A avaliação de fragmentação de DNA, ciclo celular e viabilidade das células tratadas com o chá de ayahuasca foi determinada por citometria de fluxo. Para isso, as células fixadas em etanol eram tratadas com RNase, e adicioná-va-se o iodeto de propídeo (PI) (Invitrogen - Thermo Fisher, EUA). O PI é capaz de se intercalar em pequenas sequências de bases nucleotídicas (entre 4 e 5) e de emitir uma cor vermelha quando excitadas pelo laser argônio (CARVALHO *et. al*, 2010).

As células viáveis possuem integridade em suas membranas, sendo assim, são impermeáveis ao PI e são analisadas em relação à fase do ciclo celular em que se encontram, pois esse ensaio irá quantificar o DNA, e assim sendo, a intensidade de fluorescência será menor. Já as células necróticas com suas membranas sem integridade o PI irá intercalar o DNA o que resultará em maior fluorescência.

Após 24 horas de incubação com os tratamentos, controle positivo (cisplatina) ou controle negativo (meio), o sobrenadante de cada poço foi aspirado e transferido para microtubos de polipropileno de 1,5 mL, os quais foram identificados de forma correspondente a cada um dos poços. Para obtenção das células aderidas a placa adicionou-se 400 uL de tripsina e a placa foi incubada em estufa a 37°C e 5% de CO₂ por 5 minutos. A solução de tripsina com células foi transferida para o microtubo correspondente e foi centrifugado (Eppendorf 5415R) a 2 mil rpm por 5 minutos. O sobrenadante foi retirado até a marca de 100 uL dos tubos, 500 uL de 1x PBS foram adicionados e os microtubos foram novamente centrifugados a 2 mil rpm a 4°C por 5

minutos. O sobrenadante foi novamente retirado e os pellets de células foram ressuspendidos em 1 mL de etanol (Sigma) a 70% gelado. As amostras foram armazenadas em freezer a -20°C por pelo menos 24 horas.

No dia da análise, as células foram lavadas com 1x PBS e 100 µL de RNase (50 µg/mL) (Ludwing - Biotec, EUA) foram adicionados, para diminuir qualquer ligação inespecífica com outro ácido nucléico que não seja o DNA. Os tubos foram incubados em estufa a 37°C e 5% de CO₂ por 30 minutos protegidos de luz. Em seguida, 100 µL de iodeto de propídio (20 µg/mL, Invitrogen - Thermo Fisher, EUA) em 1x PBS foram adicionados e as amostras foram novamente incubadas por 30 minutos em temperatura ambiente e protegidos da luz. As amostras foram mantidas refrigeradas no gelo e a fragmentação do DNA e o ciclo celular foram quantificados usando o citômetro de fluxo (BD FACSFortessa).

5.3.3.2- Anexina V-FITC

A anexina V é uma proteína que se liga com alta afinidade a fosfatidilserina e comumente utilizada nos ensaios de citometria de fluxo em combinação com o iodeto de propídeo (PI) e o fluorocromo tipo FITC (fluoróforo isotiocianato de fluoresceína) para identificar as células em apoptose (VALENTE, 2011). A fosfatidilserina é um fosfolípido presente na superfície interna da membrana plasmática, voltadas para o citoplasma, e quando o processo de morte celular se inicia ele é translocado para a superfície externa, funcionando como uma sinalização para a fagocitose desta célula por macrófagos.

Esse ensaio nos permite distinguir entre células viáveis, células apoptóticas precoces e células necróticas. As células viáveis são negativas para a anexina V marcada com o FITC e para PI, pois sua membrana plasmática está íntegra. As células apoptóticas iniciais são positivas para Anexina V, uma vez que a Anexina V se liga fortemente a fosfatidilserina, mas negativa para PI (pois, as membranas íntegras são impermeáveis). As células necróticas serão positivas para Anexina V, uma vez que o processo de morte já está iniciado, e também para a marcação com o PI, isso porque, quando ocorre a ligação do PI ao DNA já não existe integridade da membrana plasmática.

Assim, como previamente descrito para os outros ensaios, após 24 horas de incubação com os tratamentos ou controle positivo (cisplatina) ou controle negativo (meio) ou peróxido de hidrogênio (H₂O₂), esses foram aspirados e sobrenadante de cada

poço foi retirado e colocado em microtubos de polipropileno de 1,5 mL nomeados e correspondentes a cada um dos poços. Para obtenção das células aderidas a placa adicionou-se 400 uL de tripsina e a placa foi incubada em estufa a 37°C e 5% de CO₂ por 5 minutos. A solução de tripsina com células foi transferida para o microtubo correspondente e foi centrifugado a 2 mil rpm por 5 minutos a 4°C. O sobrenadante foi descartado até a marca de 100 uL dos tubos, 400 uL de PBS 1x foram adicionados e os tubos foram novamente centrifugados (Eppendorf 5415R) a 2.000 rpm a 4°C por 5 minutos. O sobrenadante foi novamente retirado e o volume de 100 µL de tampão de ligação (0,1 M de Hepes (pH 7,4), 1,4 M de NaCl e 25 mM de CaCl₂) foi adicionado em todos os microtubos. Em seguida 5 µL de solução de Anexina V conjugada ao FITC (Elabscience, EUA) e 10 µL de solução de iodeto de propídeo (PI) (50 µg/mL) (Invitrogen - Thermo Fisher, EUA) foram adicionados no tubos e incubados por 15 minutos protegidos da luz em temperatura ambiente. Por fim, 200 µL de tampão de ligação foram adicionados e as amostras foram colocadas em gelo e analisados por citometria de fluxo (BD FACS Fortessa).

5.4 - Ensaio *in vivo*

5.4.1 - Animais

Os experimentos *in vivo* deste projeto foram realizados com camundongos C56BL/6 com idade de 8 semanas e com variação máxima de peso de 20%, provenientes da Universidade Católica de Brasília, com sede em Taguatinga. Os animais foram aclimatados no biotério do Instituto de Biologia da UnB (alojamento do Departamento de Genética e Morfologia), por um período de 30 dias, mantidos em grupos de no máximo quatro, em caixas de polipropileno e tampa de aço inoxidável com cama de maravalha de pinho branco, em condições controladas de luminosidade (12h/12h, claro/escuro), temperatura (23± 2° C) e umidade relativa (70%). Receberam água potável e ração comercial Purina® *ad libitum*. As caixas foram colocadas em estantes com prateleiras ventiladas diretamente com sistema de filtração de ar individual para cada mini isolador, evitando assim possível contaminação cruzada.

O projeto foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética no Uso Animal (CEUA) da Universidade de Brasília (SEI nº 23106.028573/2022-39), que segue como anexo1 neste trabalho.

5.4.2 – Protocolo Experimental

Considerando que a linhagem celular B16 e os camundongos C57BL/6 representam um modelo sinérgico por compartilhar precedência genética, um total de 56 camundongos machos foram utilizados neste trabalho, sendo 8 animais por grupo. Os animais foram divididos aleatoriamente em grupos experimentais conforme desenho experimental abaixo (figura 11). As doses de tratamento foram definidas para corresponder à dose utilizada pelos integrantes da União do Vegetal (UDV) (uma dose X corresponde a 150 mL de chá para um indivíduo de aproximadamente 70 kg). Doravante, esta dose ritualística será denominada dose 1X e as doses utilizadas no estudo foram proporcionais a esta dose (1X, 2X, 5X, 10X e 15X) e foram administradas via gavagem.

Para garantir conforto e evitar lesões no animal, o volume máximo da administração da gavagem era feito individualmente, levando em consideração o peso animal 10 ml/Kg de peso animal. A dose de cisplatina 4mg/kg foi determinada de acordo com a literatura científica (ANTUNES *et al.*, 2000; ZHONG *et al.*, 2008; BIASI *et al.* 2014). A escolha da dose foi cuidadosamente considerada, levando em conta o equilíbrio entre eficácia antitumoral e a minimização de efeitos colaterais nos animais.

Figura 11: Desenho experimental.

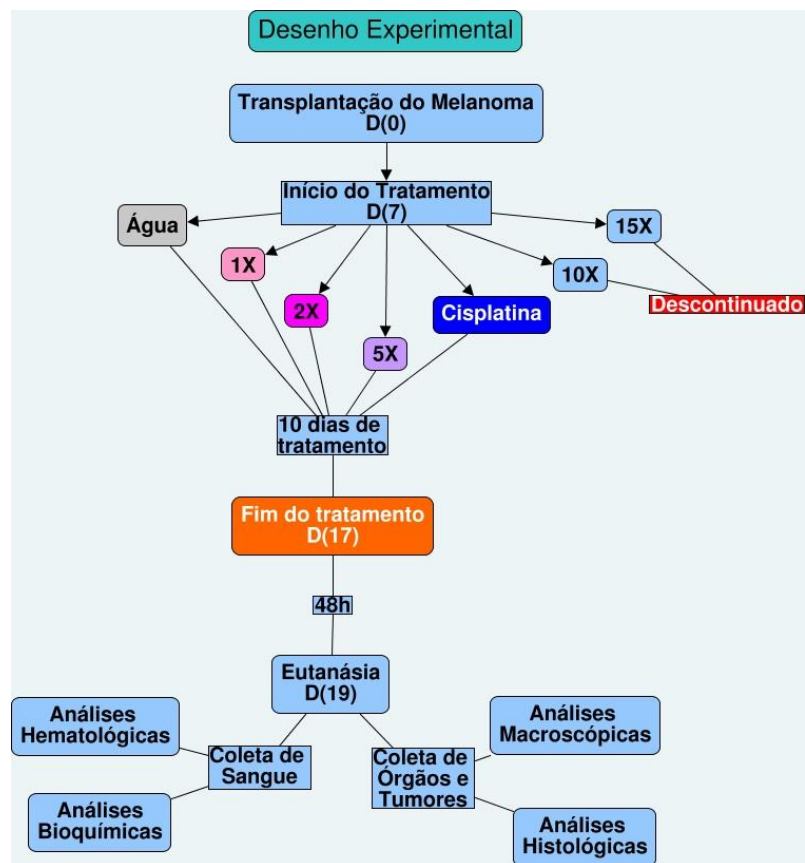


Figura 11: Desenho experimental

Fonte: Luciana Gueiros, agosto 2024.

Com exceção do grupo controle (grupo sem tumor e sem tratamento) no dia da transplantação (Dia 0), os animais foram anestesiados via intraperitoneal com 100 uL de solução de cloridrato de cetamina 10% (80mg/kg) e cloridrato de xilazina 2% (10mg/kg), foram tricotomizados e receberam injeção subcutânea no flanco direito contendo a concentração de 1.10^6 células de B16F10 ressuspendidas em DMEM incompleto com volume final de 50 uL, conforme figura 12.

Figura 12: Inoculação de células B16F10.

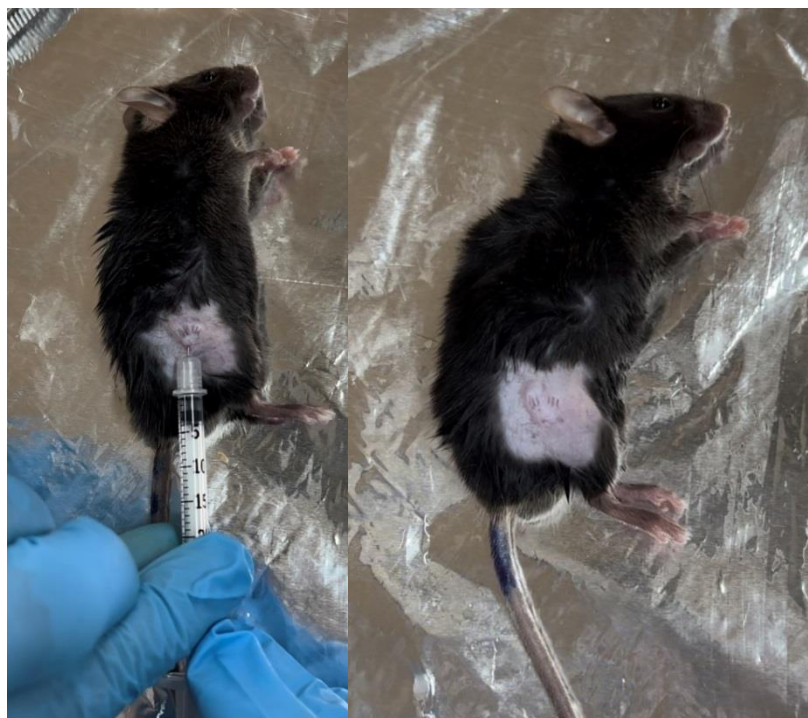


Figura 12: Inoculação de células B16F10 em camundongos C57/BL6

Fonte: Luciana Gueiros, agosto 2024.

O chá de ayahuasca foi administrado oralmente nos grupos (1X, 2X, 5X, 10X e 15X), por gavagem, uma vez ao dia, iniciando no 7º dia após a transplantação das células tumorais, verificado tumores palpáveis. Para o grupo controle negativo foi administrado água filtrada, por gavagem, nesses mesmos dias de tratamento. Já o grupo de animais controle positivo receberam em dias alternados injeção intraperitoneal de cisplatina a 4mg/kg.

Durante todo o tratamento os animais foram avaliados diariamente quanto aos sinais clínicos: alteração na atividade motora (aumento ou diminuição da ambulação), alteração da aparência (modificações posturais ou na cor da pele, alopecia, secreção ocular ou nasal), piloereção, aumento da agressividade, relutância em interagir, vocalização, rangido dos dentes, alterações no consumo da ração ou água e alterações na excreção de urina e fezes. Os sinais de toxicidade, também foram examinados diariamente, qualquer variação foi devidamente registrada e o animal rigorosamente acompanhado. Em dias alternados os animais foram pesados e seus tumores medidos com paquímetro conforme descrito na literatura (TOMAYKO & REYNOLDS, 1989) para cálculo de volume tumoral em milímetros cúbicos (mm³) com fórmula:

$$\text{VOLUME DO TUMOR} = (\text{COMPRIMENTO}) \times (\text{LARGURA})^2 \times 0,5$$

Os animais foram tratados por 10 dias consecutivos (D(17)) e 48 horas após o último dia do tratamento (D(19)) os animais foram eutanasiados por overdose de solução de cloridrato de cetamina 10% (80mg/kg) e cloridrato de xilazina 2% (10mg/kg) por via intraperitoneal. Após a verificação de ausência de reflexos, realizou-se punção cardíaca e o sangue foi aspirado e reservado para hemograma e análises bioquímicas.

5.4.3 - Coleta de órgãos

Em seguida, para a coleta dos órgãos, os animais foram colocados sobre a mesa cirúrgica e uma incisão frontal reta foi feita para acessar os órgãos de interesse: coração, pulmão, fígado, baço, rins, timo, linfonodo sentinela, estômago e intestino assim como o tumor. Foi realizada a abertura do crânio para retirada do cérebro. Os órgãos foram observados quanto à largura, comprimento e espessura, qualquer alteração morfológica macroscópica foi anotada. Tumor e órgãos foram pesados e fixados para posteriores análises histopatológicas. O peso absoluto dos órgãos foi determinado pelo peso obtido durante a pesagem da balança, já o peso relativo foi calculado usando a fórmula:

$$\text{PESO RELATIVO} = \frac{\text{PESO DO ÓRGÃO}}{\text{PESO ANIMAL}}$$

5.4.4 - Hemograma e análises bioquímicas

Para avaliar os possíveis efeitos hematológicos dos tratamentos, 100 uL de sangue, foi transferido para microtubo com anticoagulante EDTA para realização do hemograma completo no hematímetro (HematoClinVet 2.8). Os parâmetros analisados foram: hematócrito total (HCT), hemoglobina (HGB), eritrograma (RBC), leucograma (WBC), plaquetograma (PLT) e procalcitonina (PCT).

A outra parte do sangue foi transferido para microtubo com ativador de coágulo e gel, centrifugado (Eppendorf 5415R) a 1200 rcf por 5 minutos para obtenção do soro que foi congelado a -80°C para análises bioquímicas posteriores. O equipamento automatizado utilizado para a análise do soro, previamente descongelado, foi ChemWell-T® e kits diagnósticos padronizados (Labtest) conforme instruções do fabricante e os substancias/enzimas analisados, principalmente para avaliações renais e

hepáticas, foram dosados: alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina, lactato desidrogenase (LDH), albumina, creatinina K e ureia.

5.4.5 -Análises histológicas

O processamento histológico foi realizado mergulhando os órgãos para fixação em solução de formaldeído 10% tamponado por 24 horas em temperatura ambiente. Logo em seguida os órgãos foram desidratados em série etanólica crescente de 70, 80, 90%, durante uma hora cada, sendo então mergulhados em três banhos de álcool absoluto durante uma hora cada. A diafanização foi feita em banhos de 45 minutos álcool e xilol (1:1), seguido de três banhos de xilol 100%. Na etapa de inclusão, realizou-se três banhos de 1 hora cada em estufa a 60°C com parafina. O material foi incluído em blocos de parafina moldados em metal formato L. Após a solidificação os blocos foram seccionados por micrótomo da marca Leica RM2125RT com 5µm de espessura. Os cortes foram colhidos em lâminas de vidro e mantidas em estufa a 39°C por pelo menos 24 horas para garantir sua aderência nas lâminas. Para retirar a parafina as lâminas passaram por três banhos de xilol, dois banhos de álcool absoluto e uma série decrescente etanólica de 90, 80 e 70%. As secções foram coradas com hematoxilina, lavadas em água corrente e submersos em eosina.

Depois de corado, o material foi desidratado em solução etanólica crescente 70, 80 e 90%, dois banhos de álcool absoluto e diafanizados em xilol. Após o último banho foram montadas com Entellan (merck), recobertas com lamínulas e colocadas para secagem em caixas de plástico, por no mínimo 48 horas até sua limpeza e codificação. As lâminas foram analisadas e fotografadas utilizando software de microscopia digital da ZEISS (*efficient navigation*) utilizando microscopia óptica comum (ZEISS) com auxílio do Professor Dr. Marco Célio do Instituto de Biologia da Universidade de Brasília. Foram obtidas em média vinte lâminas de cada órgão e três lâminas com cortes escalonados foram selecionadas para a análise microscópica. As lâminas foram codificadas aleatoriamente, sem conhecimento do avaliador ao grupo em que pertencia.

Foi realizada a leitura qualitativa das lâminas e avaliado as alterações dos órgãos levando em consideração: coloração padrão já bem estabelecida para as estruturas, alteração na morfologia de núcleos, rompimento de limites de alguma organela citoplasmática, presença de congestão vascular, áreas com infiltrado inflamatório, congestão de vasos e capilares, núcleos com cromatina extremamente condensada,

edema, esteatose e áreas de degenerações reversíveis (hidrópica e gordurosa) e irreversíveis (necrose e apoptose).

6- ESTATÍSTICA

Os dados referentes aos experimentos realizados foram expressos como média $\pm$ desvio padrão da média de experimentos independentes realizados em triplicatas. As análises dos dados foram realizadas usando o software *GraphPad Prism* 9.0. A normalidade foi verificada empregando o teste *Shapiro-Wilk*. Quando os resultados dos testes de normalidade foram paramétricos, os grupos foram avaliados pelo teste ANOVA seguido do pós-teste *Tukey*, já quando os resultados dos testes de normalidade foram não-paramétricos, os grupos foram avaliados pelo teste *Kruskal-Wallis* seguido do pós-teste *Dunn's*. Para os testes de correlação utilizamos o *Spearman*. Valores de $p \leq 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

7- RESULTADOS

7.1-Análise quantitativa do chá de ayahuasca

A análise quantitativa do chá ayahuasca foi feita por GC-MS/MS indicou a presença de 0.146 mg/mL de DMT, 0.754 mg/mL de harmina, 0.129 mg/mL de harmalina e 1.163 mg/mL de THH.

A Figura 13 ilustra o cromatograma e o espectro de massa do DMT obtido por CG-MS/MS.

Figura 13: Cromatograma e o espectro de massa do DMT.

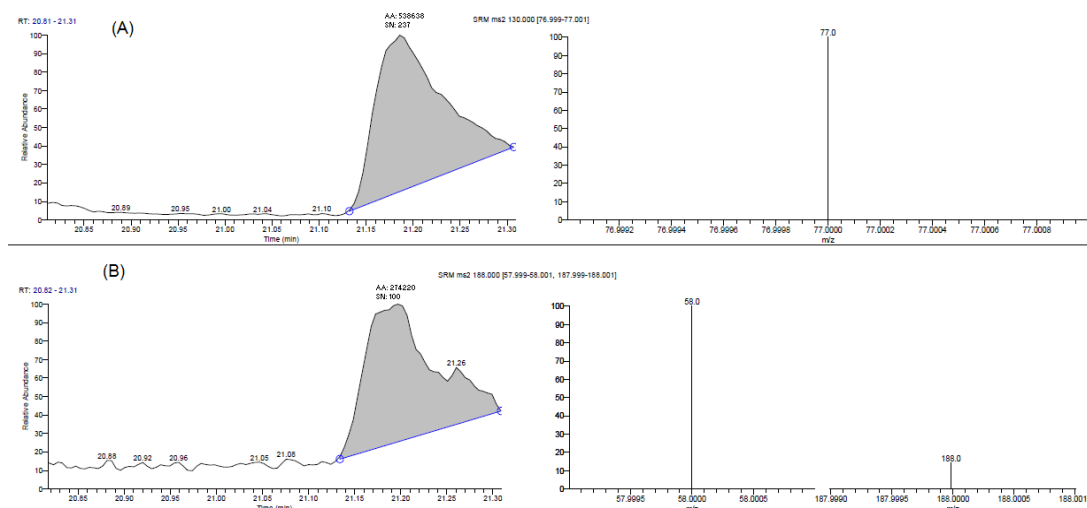


Figura 13: Cromatograma e espectro de massa obtido do chá da ayahuasca. (A) Íon de Quantificação. (B) Íons de confirmação.

7.2- Experimentos *in vitro*

7.2.1- Determinação da viabilidade celular – MTT

A avaliação do efeito citotóxico do chá de ayahuasca nas linhagens celulares estudadas após 24 horas de incubação foi determinada pela viabilidade celular através do ensaio de MTT que apresentou diferentes resultados de acordo com o tipo tumoral. No caso das células B16F10 (figura 14) a incubação com concentrações crescente do chá de ayahuasca reduz a viabilidade celular quando comparadas com grupo controle.

Figura 14: Viabilidade celular das células B16F10.

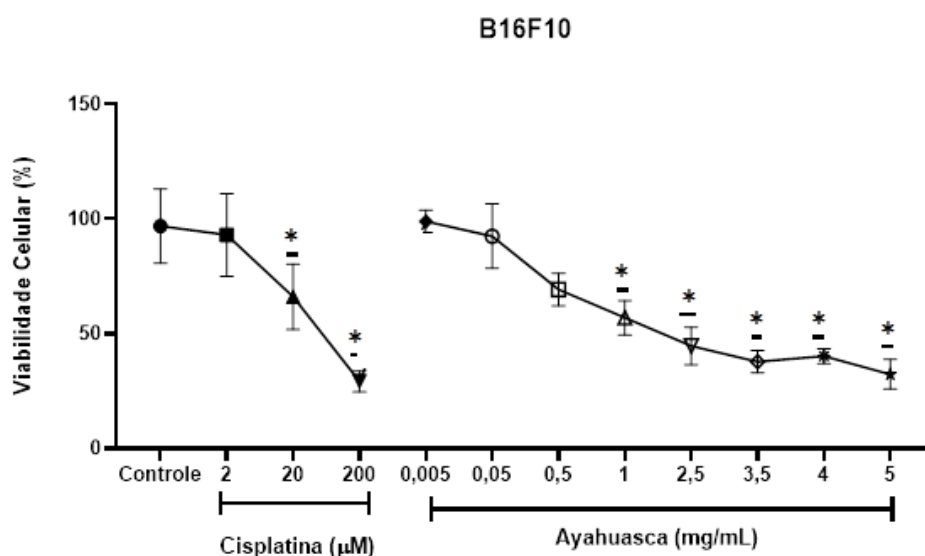


Figura 14: Gráficos representando o percentual de viabilidade celular da linhagem tumoral B16F10 após a incubação com o chá de ayahuasca ou cisplatina por 24 horas sob diferentes concentrações. Utilizou-se o método colorimétrico de detecção por MTT. Os resultados aqui apresentados são representativos de 3 experimentos independentes com 3 repetições cada. Os dados estão expressos média $\pm$ desvio padrão. O asterisco indica diferença estatisticamente significativa quando comparados com grupo controle, onde $*P \leq 0,05$. A estatística foi feita no *GraphPad Prism 9.0* com os testes de *Kruskal-Wallis* seguido do teste *Dunn's*.

A redução da viabilidade celular das células de B16F10 mostrou uma relação direta entre aumento da concentração utilizada nas diferentes doses do chá de ayahuasca e diminuição da viabilidade celular que foi significativa a partir da dose de 1 mg/mL até a maior dose (5 mg/mL) onde a viabilidade atingiu $31,503 \pm 2,158\%$. Em relação à cisplatina existe redução da viabilidade celular que é significativa nas duas maiores doses testadas atingindo $29,143 \pm 1,863\%$ na dose de 200 μ M.

A viabilidade celular da linhagem tumoral U87MG está representada na figura 15.

Figura 15: Viabilidade celular das células U87MG.

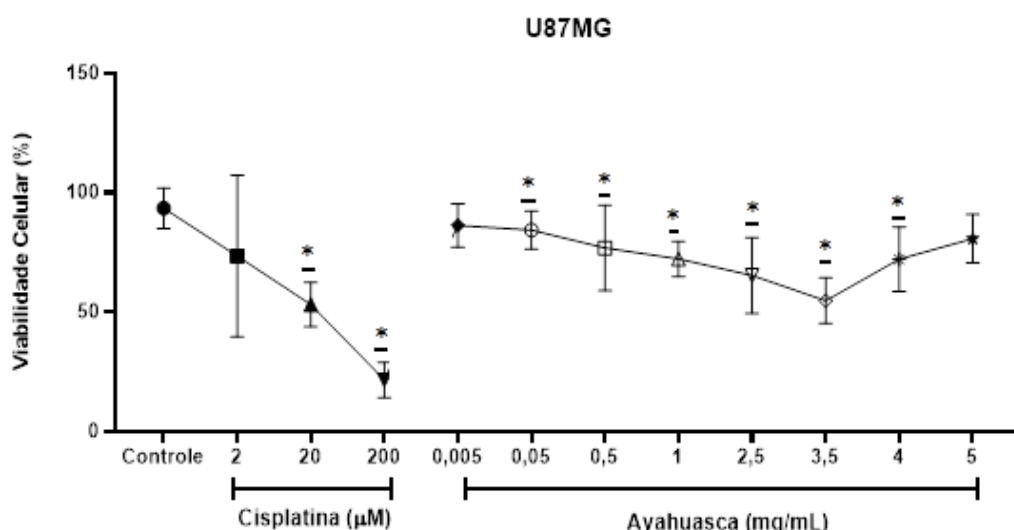


Figura 15: Gráficos representando o percentual de viabilidade celular da linhagem tumoral U87MG após a incubação com o chá de ayahuasca ou cisplatina por 24 horas sob diferentes concentrações. Utilizou-se o método colorimétrico de detecção por MTT. Os resultados aqui apresentados são representativos de 3 experimentos independentes com 3 repetições cada. Os dados estão expressos média $\pm$ desvio padrão. O asterisco indica diferença estatisticamente significativa quando comparados com grupo controle, onde $*P \leq 0,05$. A estatística foi feita no *GraphPad Prism 9.0* com os testes de ANOVA seguido do teste *Tukey*.

A incubação por 24 horas com o chá de ayahuasca na linhagem tumoral U87MG promoveu uma tendência de redução da viabilidade celular nas menores doses de tratamento, sendo significativa nas doses de: 0,5; 1; 2,5 (mg/mL) atingindo a menor viabilidade ($54,77 \pm 6,4\%$) na dose 3,5 mg/mL. Porém, essa tendência foi revertida nas duas maiores doses de tratamento, sendo ainda significativa na dose de 4 mg/mL. Em

relação à cisplatina existe uma redução da viabilidade celular que é significativa nas duas maiores doses testadas atingindo $21,58 \pm 4,73\%$ na dose de 200 μM .

A representação da viabilidade celular da linhagem tumoral MCF7 está representada na figura 16.

Figura 16: Viabilidade celular das células MCF7.

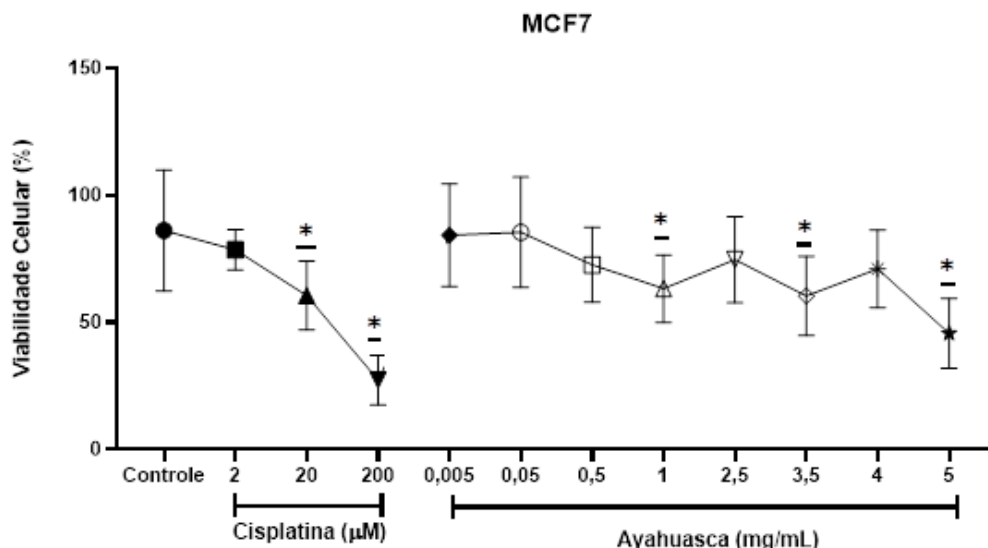


Figura 16: Gráficos representando o percentual de viabilidade celular da linhagem tumoral MCF7 após a incubação com o chá de ayahuasca ou cisplatina por 24 horas sob diferentes concentrações. Utilizou-se o método colorimétrico de detecção por MTT. Os resultados aqui apresentados são representativos de 3 experimentos independentes com 3 repetições cada. Os dados estão expressos média $\pm$ desvio padrão. O asterisco indica diferença estatisticamente significativa quando comparados com grupo controle, onde $*P \leq 0,05$. A estatística foi feita no *GraphPad Prism 9.0* com os testes de ANOVA seguido do teste Tukey.

A viabilidade celular da linhagem tumoral MCF7 após incubação por 24 horas com concentrações crescente do chá de ayahuasca não promoveu uma relação direta entre aumento da concentração do chá de ayahuasca e diminuição da viabilidade celular. Houve uma oscilação nessa relação, que foi particular desse grupo celular. A redução da viabilidade foi significativa nas doses de 1; 3,5 e 5 mg/mL. Na maior dose testada a viabilidade celular foi $45,7 \pm 1,3$. O tratamento com a cisplatina seguiu a mesma tendência das linhagens tumorais estudadas ocorrendo redução na viabilidade celular relacionada ao aumento da concentração de cisplatina que significativa nas duas maiores doses testadas atingindo $27,3 \pm 7\%$ na dose de 200 μM .

As linhagens tumorais U87MG e MCF7 mostraram-se menos sensíveis ao tratamento com as diferentes concentrações do chá de ayahuasca quando comparadas com a linhagem tumoral B16F10, já que, suas viabilidades mantiveram-se acima dos 45%. A linhagem tumoral de melanoma mostrou mais sensível ao tratamento, já que, na

maior dose apresentou menor viabilidade e, a partir desse resultado, seguimos para os ensaios em animais com esse tipo celular.

A figura 17 representa a viabilidade celular da linhagem não-tumoral NIH3T3.

Figura 17: Viabilidade celular das células NIH3T3.

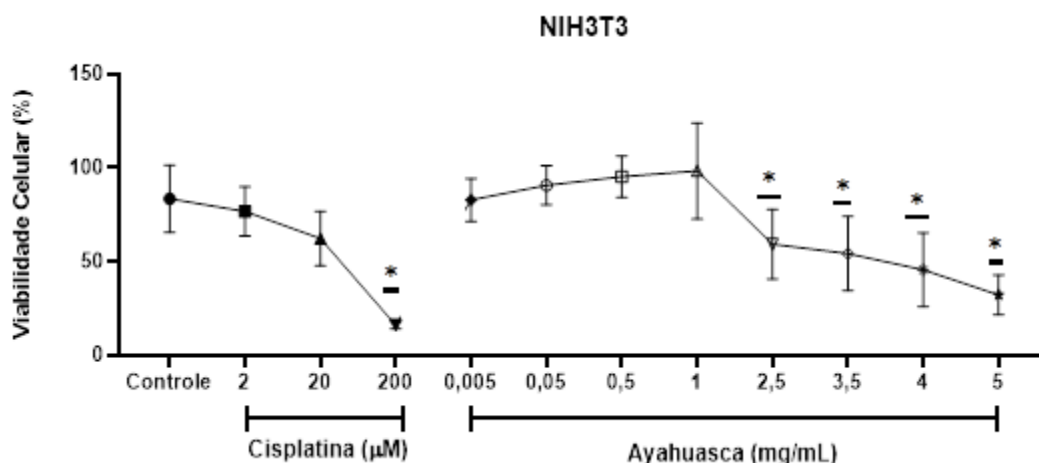


Figura 17: Gráficos representando o percentual de viabilidade celular da linhagem não tumoral NIH3T3 após a incubação com o chá de ayahuasca ou cisplatina por 24 horas sob diferentes concentrações. Utilizou-se o método colorimétrico de detecção por MTT. Os resultados aqui apresentados são representativos de 3 experimentos independentes com 3 repetições cada. Os dados estão expressos média $\pm$ desvio padrão. O asterisco indica diferença estatisticamente significativa quando comparados com grupo controle, onde $*P \leq 0,05$. A estatística foi feita no *GraphPad Prism 9.0* com os testes de ANOVA seguido do teste *Tukey*.

A linhagem não tumoral NIH3T3 apresentou um resultado interessante quando incubada por 24 horas com o chá de ayahuasca, já que, ocorreu aumento na viabilidade celular quando as células foram tratadas com as menores doses do tratamento, atingindo o máximo de $98,3 \pm 24\%$ na dose de 1 mg/mL. Essa tendência foi revertida, a partir da dose de 1 mg/mL, e iniciou-se uma acentuada redução na viabilidade celular, que se mostrou significativa a partir da dose de 2,5 mg/mL atingindo $32,2 \pm 11\%$ na dose de 5 mg/mL. A cisplatina também apresentou um comportamento diferenciado na linhagem não tumoral, isso porque, a redução da viabilidade foi significativa apenas na sua maior dose (200 μM) $16,1 \pm 1,7\%$.

A partir dos resultados dos testes de viabilidade celular foi calculado o IC_{50} de cada tipo tumoral (tabela 1) após 24 horas de incubação com o chá de ayahuasca. Foi utilizado o software *GraphPad Prism 9.0* para o cálculo do IC_{50} baseado na absorbância e após a normalização com o grupo controle. Esses resultados foram utilizados ao longo de todo o experimento *in vitro*.

Tabela 1: Valores do IC₅₀ das diferentes linhagens celulares incubadas com chá de ayahuasca por 24 horas.

	B16F10	U87MG	MCF7	NIH3T3
IC ₅₀	1 mg/mL	1,5 mg/mL	2,5 mg/mL	2,5 mg/mL

7.2.2- Avaliação da integridade da membrana celular

O ensaio de azul de tripan foi utilizado para investigar o efeito do chá de ayahuasca, em diferentes concentrações, após 24 horas de exposição na integridade de membrana plasmática das diferentes linhagens de células. A cisplatina e o meio DEMEM foram empregados como controles, positivos e negativos, respectivamente. Os resultados para a linhagem tumoral B16F10 estão representados na figura 18.

Figura 18: Avaliação da integridade da membrana celular das células B16F10.

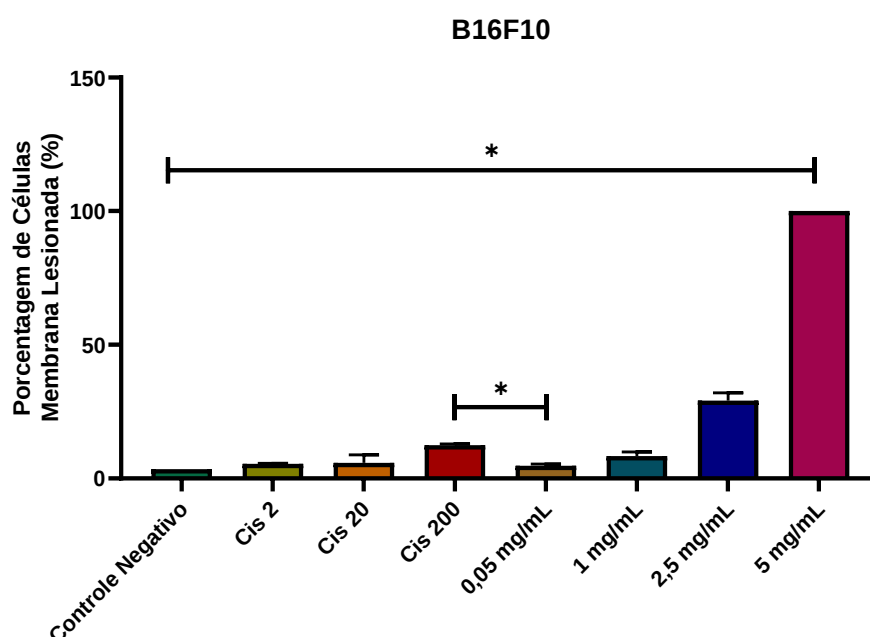


Figura 18: Porcentagem de células de melanoma com lesão de membrana plasmática após exposição por 24 horas ao chá de ayahuasca (mg/mL) ou cisplatina (μ M), em diferentes concentrações. Utilizou-se o ensaio de coloração com azul de tripan. Os resultados aqui apresentados são representativos de 3 experimentos independentes com 3 repetições cada. Os dados estão expressos média $\pm$ desvio padrão. O asterisco indica diferença estatisticamente significativa quando comparados com grupo controle, onde $*P \leq 0,05$. A estatística foi feita no *GraphPad Prism 9.0* com os testes de ANOVA seguido do teste Tukey.

O grupo controle negativo apresentou média de $96,47 \pm 0,0\%$ de células com membrana plasmática íntegra e $3,53 \pm 0,0\%$ de células com membrana lesionada. O grupo tratado com IC₅₀ (1 mg/mL) apresentou média de $91,62 \pm 0,015\%$ de células com

membrana plasmática íntegra e $8,37 \pm 0,015\%$ de células com membrana lesionada, ainda que o número de lesões tenha aumentado, não houve diferença significativa em relação ao controle negativo. Houve um aumento bastante expressivo e significativo de células com membrana lesionadas $100 \pm 0,00\%$ no grupo experimental tratado com a maior dose do chá de ayahuasca (5mg/mL) quando comparado com o grupo controle negativo. Esse aumento de células lesionadas também foi observado em todas as concentrações testadas de ayahuasca e do grupo tratado com cisplatina (controle positivo). Também foi encontrado diferença significativa, quando comparados os grupos de tratamento com a menor dose do chá de ayahuasca (0,05 mg/mL) e o controle positivo em sua maior dose (200 μ M). Houve diminuição de células com membrana intacta de $95,22 \pm 0,006\%$ no grupo de 0,05 mg/mL para $87,58 \pm 0,005\%$ no grupo tratado com cisplatina e aumento de células com membrana lesionadas de $4,78 \pm 0,007$ no grupo de 0,05 mg/mL para $12,42 \pm 0,005\%$ no grupo tratado com cisplatina.

Os resultados relativos à integridade da membrana celular para a linhagem tumoral U87MG estão representados na figura 19.

Figura 19: Avaliação da integridade da membrana celular das células U87MG.

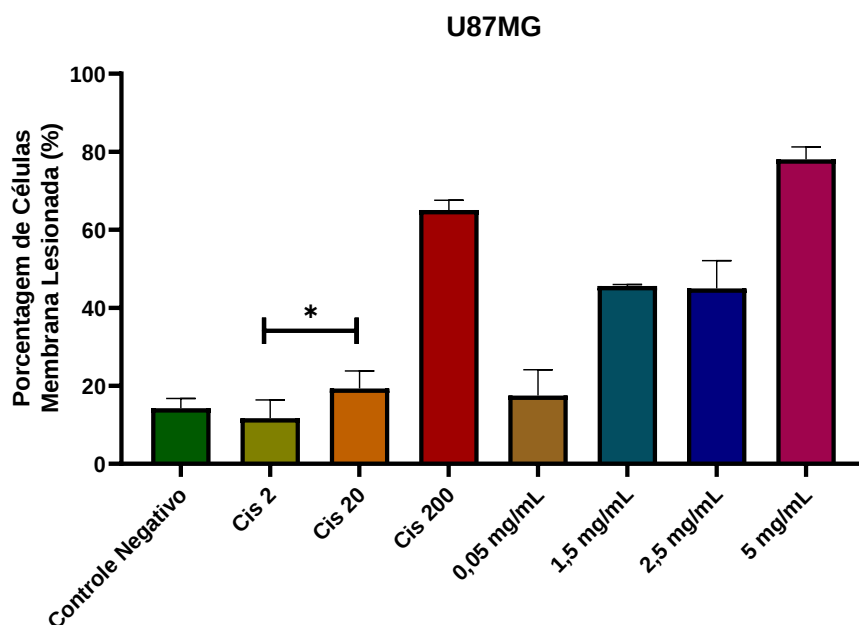


Figura 19: Porcentagem de células de glioblastoma com lesão de membrana plasmática após exposição por 24 horas ao chá de ayahuasca (mg/mL) ou cisplatina (μ M), em diferentes concentrações. Utilizou-se o ensaio de coloração com azul de tripan. Os resultados aqui apresentados são representativos de 3 experimentos independentes com 3 repetições cada. Os dados estão expressos média $\pm$ desvio padrão. O asterisco indica diferença estatisticamente significativa quando comparados com grupo controle, onde $*P \leq 0,05$. A estatística foi feita no *GraphPad Prism 9.0* com os testes de ANOVA seguido do teste Tukey.

Houve diferença significativa, quando comparados os grupos de tratamento com cisplatina na dose de 2 e 20 (μM). Houve diminuição de células com membrana intacta de $88,30 \pm 0,047\%$ no grupo de 2 μM para $80,67 \pm 0,045\%$ no grupo 20 μM e aumento de células com membrana lesionadas de $11,69 \pm 0,047$ no grupo de 2 μM para $19,33 \pm 0,045\%$ no grupo tratado com 20 μM . Quando comparamos os grupos tratados com o chá de ayahuasca e o grupo controle negativo houve uma tendência de diminuição das células com membranas intactas e aumento das células com membranas lesionadas em todas as doses de tratamento, ainda que não significativo, ficando mais evidente na maior dose de tratamento em que a média das células intactas foi de $21,95 \pm 0,032\%$ e lesionadas $78,06 \pm 0,032\%$ quando comparadas com o controle negativo, células intactas $85,75 \pm 0,025\%$ e lesionadas $14,24 \pm 0,025\%$.

Quando analisamos os resultados da integridade de membrana da linhagem tumoral MCF7 (figura 20) notamos diferença significativa quando comparamos as células com membranas lesionadas do grupo controle negativo ($5,97 \pm 0\%$) e controle positivo a 20 μM ($13,93 \pm 0,001\%$). Houve aumento significativo das células com membrana lesionada quando comparamos controle positivo a 2 μM ($7,67 \pm 0,031\%$) e IC_{50} ($30,39 \pm 0,025\%$). Já as células com membranas intactas foi encontrado diminuição significativa quando comparamos o grupo controle positivo a 20 μM ($85,40 \pm 0,009\%$) e tratados com a menor dose de ayahuasca ($78,79 \pm 0,011$). Também foi observado essa diminuição significativa quando comparamos o grupo controle positivo a 2 μM ($92,33 \pm 0,031\%$) e IC_{50} ($69,61 \pm 0,025\%$). Notamos que, para a linhagem MCF7, à medida que aumentamos as doses de tratamento com a ayahuasca ocorre aumento da porcentagem de células com membranas lesionadas.

Figura 20: Avaliação da integridade da membrana celular das células MCF7.

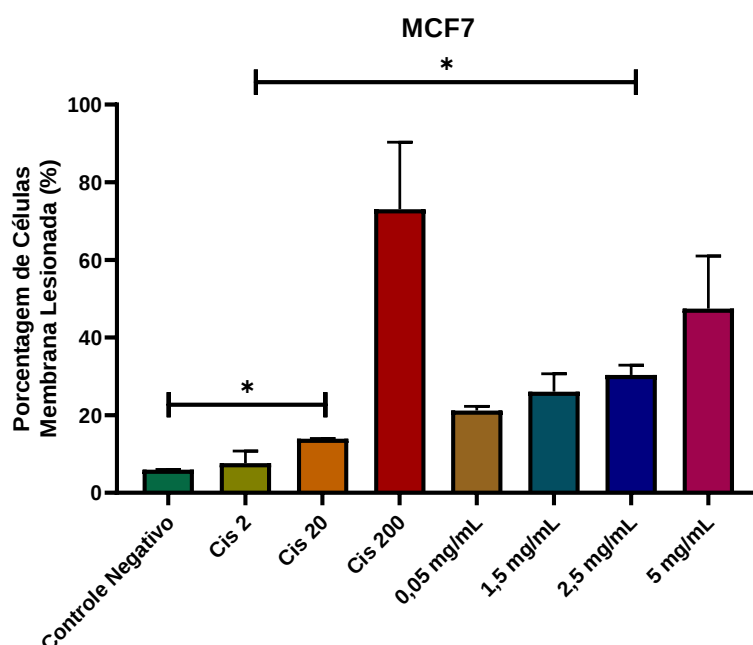


Figura 20: Porcentagem de células de câncer de mama com lesão de membrana plasmática após exposição por 24 horas ao chá de ayahuasca (mg/mL) ou cisplatina (μ M), em diferentes concentrações. Utilizou-se o ensaio de coloração com azul de tripan. Os resultados aqui apresentados são representativos de 3 experimentos independentes com 3 repetições cada. Os dados estão expressos média $\pm$ desvio padrão. O asterisco indica diferença estatisticamente significativa quando comparados com grupo controle, onde $*P \leq 0,05$. A estatística foi feita no *GraphPad Prism 9.0* com os testes de ANOVA seguido do teste *Tukey*.

A linhagem não tumoral NIH3T3 apresentou o maior número de diferenças significativas entre os grupos experimentais, representadas na figura 21.

Figura 21: Avaliação da integridade da membrana celular das células NIH3T3.

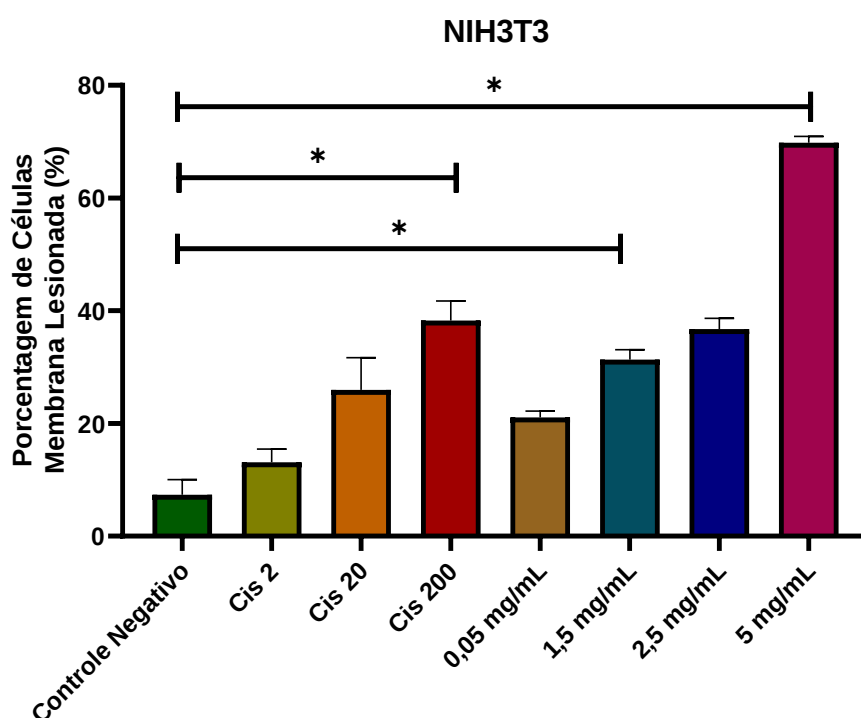


Figura 21: Porcentagem de células de fibroblasto com lesão de membrana plasmática após exposição por 24 horas ao chá de ayahuasca (mg/mL) ou cisplatina (μ M), em diferentes concentrações. Utilizou-se o ensaio de coloração com azul de tripan. Os resultados aqui apresentados são representativos de 3 experimentos independentes com 3 repetições cada. Os dados estão expressos média $\pm$ desvio padrão. O asterisco indica diferença estatisticamente significativa quando comparados com grupo controle, onde $*P \leq 0,05$. A estatística foi feita no *GraphPad Prism 9.0* com os testes de ANOVA seguido do teste *Tukey*.

Quando comparamos o grupo controle negativo e as doses de 1,5 e 5 mg/mL de tratamento com o chá de ayahuasca houve aumento significativo das células com membrana lesionadas. Esse resultado se repetiu quando comparamos o grupo controle negativo e o controle positivo na maior dose e grupo controle positivo a 200 μ M e a maior dose do chá de ayahuasca. Quando comparamos o grupo controle positivo a 2 μ M houve aumento significativo das células com membrana lesionadas quando comparados com os tratados na dose de 1,5; 2,5 e 5 mg/mL. Houve diferença significativa entre os

grupos tratados com o chá de ayahuasca, o grupo de menor dose (0,05 mg/mL) foi diferente dos grupos tratados com 2,5 e 5 mg/mL; o mesmo aconteceu com o grupo tratado com 1,5 mg/mL que foi significativamente diferente dos grupos de 2,5 e 5 mg/mL. As duas maiores doses de tratamento 2,5 e 5 mg/mL também apresentaram diferenças significantes entre si. Foi possível observar que à medida que aumentamos a concentração de tratamento do chá de ayahuasca e cisplatina também ocorre aumento de células com membrana lesionadas.

7.2.3- Citometria de fluxo

A citometria de fluxo foi empregada nesse estudo para investigar os mecanismos de ação das amostras testadas nas diferentes linhagens celulares. Além desses dados, essa técnica permite estabelecer a morfologia das células de acordo com seu tamanho (FSC-C) e a granulosidade (SSC-H), determinar tipo de morte celular, fragmentação de DNA, ciclo celular, espécies reativas de oxigênio, potencial de membrana mitocondrial e outros parâmetros.

7.2.3.1- Fragmentação do DNA e ciclo celular

As diferentes linhagens celulares estudadas foram expostas ao IC₅₀ do chá de ayahuasca, cisplatina 200 µM (controle positivo) e meio (controle negativo) por 24 horas. As células foram marcadas com Iodeto Propídeo (PI) e analisadas por citometria de fluxo para obtenção dos resultados da fragmentação do DNA e do ciclo celular. O ajuste dos parâmetros do equipamento para detecção adequado do PI foi realizada utilizando células sem tratamento e sem marcação, sem tratamento e com marcação, com tratamento e sem marcação e com tratamento e com marcação, isso porque o chá de ayahuasca e a cisplatina apresentam fluorescência. Para a linhagem tumoral B16F10 os resultados estão representados na figura 22.

Figura 22: Avaliação da fragmentação do DNA das células B16F10.

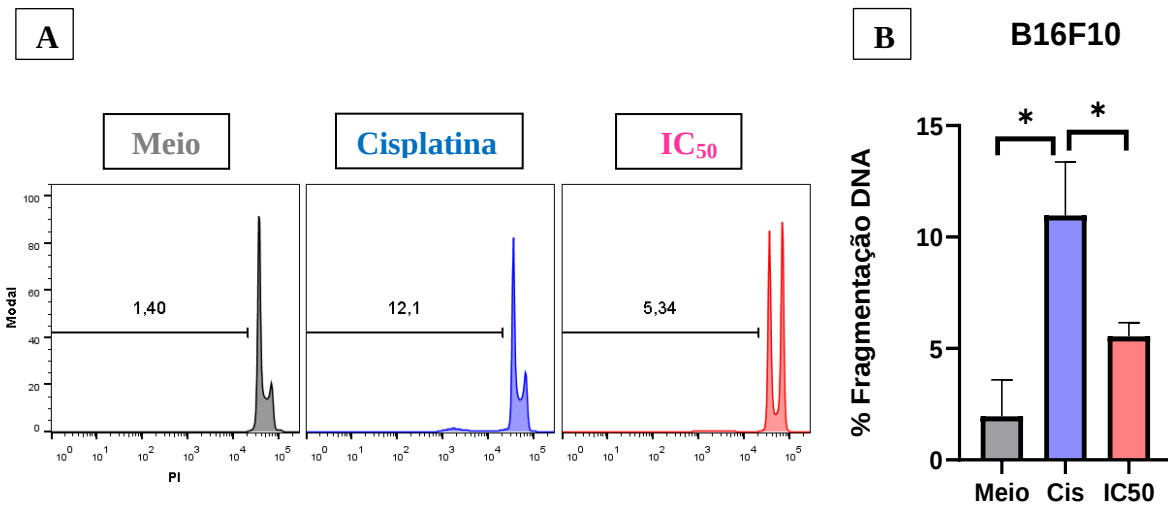
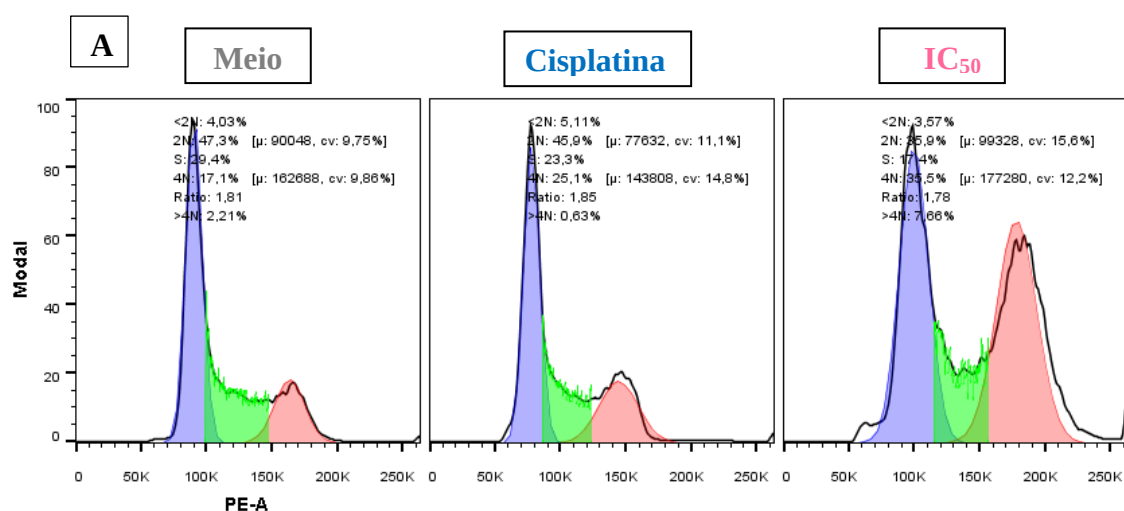


Figura 22: Avaliação da fragmentação de DNA por citometria de fluxo após 24 horas de exposição ao IC₅₀ do chá de ayahuasca (1 mg/mL), cisplatina (controle positivo) na concentração de 200 μ M e controle negativo (meio), em linhagem de melanoma - B16F10. Os resultados aqui apresentados são representativos de 3 experimentos independentes com 3 repetições cada. A- painéis feitos no *FlowJo*. B- Os dados estão expressos média $\pm$ desvio padrão. O asterisco indica diferença estatisticamente significativa quando comparados com grupo controle, onde $*P \leq 0,05$. A estatística foi feita no *GraphPad Prism 9.0* com os testes de ANOVA seguido do teste *Tukey*.

Foi possível observar um aumento significativo da porcentagem de DNA fragmentado do controle positivo e IC₅₀ em comparação com o grupo controle negativo. Esse aumento foi significativo quando comparamos controles negativo e positivo e quando comparamos controle positivo e IC₅₀, ressaltamos que a cisplatina foi o grupo experimental que mais fragmentou DNA.

Como esse grupo celular apresentou uma fragmentação fraca, foi possível realizar o ensaio para fases do ciclo celular. Após a exposição ao tratamento, foi possível notar alterações nas fases do ciclo celular, mostradas na figura 23.

Figura 23: Avaliação das fases do ciclo celular das células B16F10.



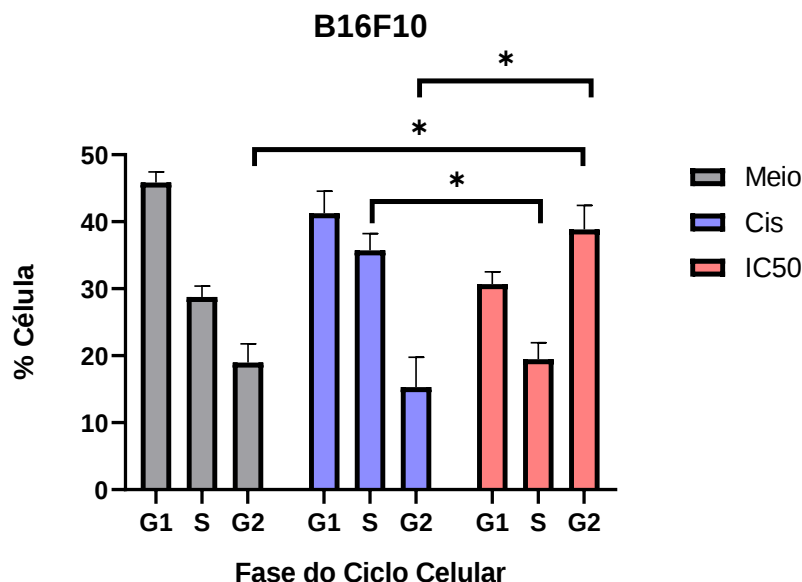
B

Figura 23: Avaliação das fases do ciclo celular por citometria de fluxo após 24 horas de exposição ao IC₅₀ do chá de ayahuasca (1 mg/mL), cisplatina (controle positivo) na concentração de 200 μ M e controle negativo (meio), em linhagem de melanoma - B16F10. Os resultados aqui apresentados são representativos de 3 experimentos independentes com 3 repetições cada. A- painéis feitos no *FlowJo*. B- Os dados estão expressos média $\pm$ desvio padrão. O asterisco indica diferença estatisticamente significativa quando comparados com grupo controle, onde *P $\leq$ 0,05. A estatística foi feita no *GraphPad Prism* 9.0 com os testes de ANOVA seguido do teste *Tukey*.

Foi possível notar alterações no perfil do ciclo celular nas amostras testadas. A porcentagem de células em fase G1 diminuiu, com mais intensidade no grupo tratado com o chá de ayahuasca, porém, sem significância, quando comparamos com o grupo controle positivo na mesma fase. Em paralelo, o número de células em fase S aumentou significativamente no grupo controle positivo quando comparado com o IC₅₀. Apesar da fase S apresentar menor número de células no grupo IC₅₀, assim como na fase G1, esse resultado não foi significante quando comparado com o controle. Quando analisamos a fase G2 houve aumento significativo de células no grupo IC₅₀ quando comparado aos grupos controles (positivo e negativo).

Os resultados da fragmentação de DNA para a linhagem tumoral U87MG estão representados na figura 24, destaca-se que o experimento de ciclo celular não foi realizado já que a fragmentação foi considerada alta.

Figura 24: Avaliação da fragmentação do DNA das células U87MG.

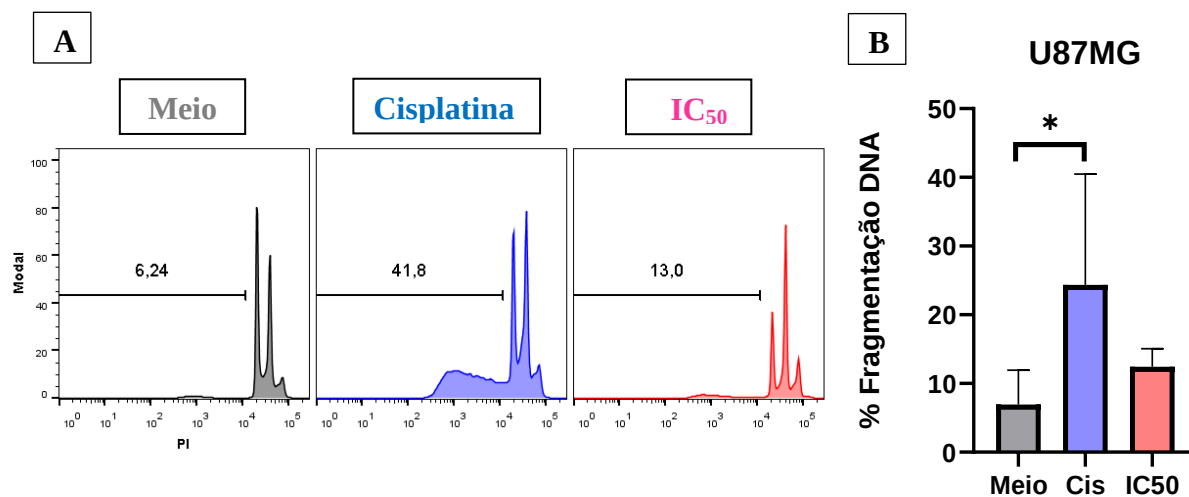


Figura 24: Avaliação da fragmentação de DNA por citometria de fluxo após 24 horas de exposição ao IC₅₀ do chá de ayahuasca (1,5 mg/mL), cisplatina (controle positivo) na concentração de 200 μ M e controle negativo (meio), em linhagem de glioblastoma – U87MG. Os resultados aqui apresentados são representativos de 3 experimentos independentes com 3 repetições cada. A- painéis feitos no *FlowJo*. B- Os dados estão expressos média $\pm$ desvio padrão. O asterisco indica diferença estatisticamente significativa quando comparados com grupo controle, onde $*P \leq 0,05$. A estatística foi feita no *GraphPad Prism 9.0* com os testes de *Kruskall-Wallis* seguido do teste *Dunn's*.

Houve aumento da fragmentação de DNA nos grupos experimentais quando comparados com o grupo controle e foi significativo no tratamento com cisplatina.

Na figura 25 abaixo estão representados os resultados da fragmentação de DNA da linhagem tumoral MCF7, o ensaio para ciclo celular não se aplicou devido à alta fragmentação do DNA.

Figura 25: Avaliação da fragmentação do DNA das células MCF7.

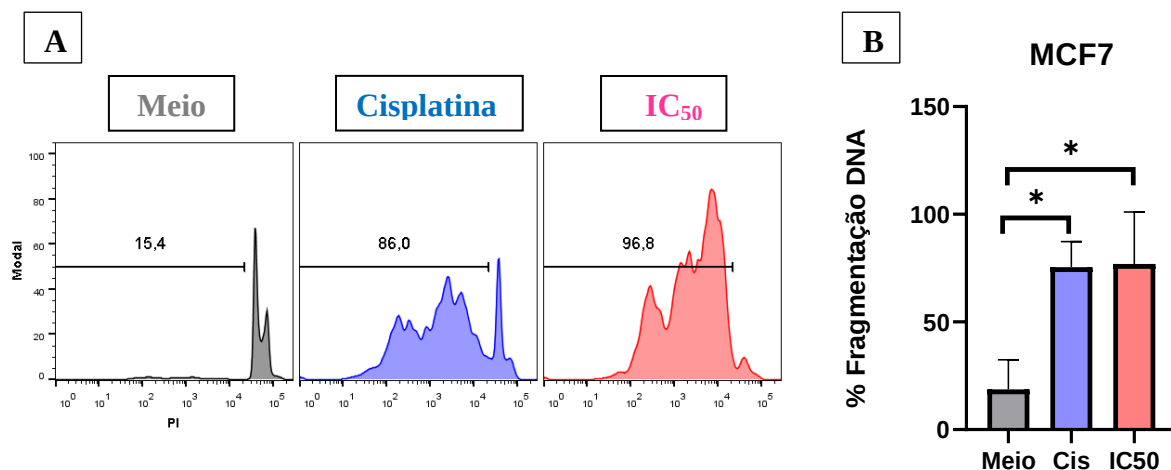


Figura 25: Avaliação da fragmentação de DNA por citometria de fluxo após 24 horas de exposição ao IC₅₀ do chá de ayahuasca (2,5 mg/mL), cisplatina (controle positivo) na concentração de 200 μ M e controle negativo (meio), em linhagem de câncer de mama – MCF7. Os resultados aqui apresentados são representativos de 3 experimentos independentes com 3 repetições cada. A- painéis feitos no *FlowJo*. B- Os dados estão expressos média $\pm$ desvio padrão. O asterisco indica diferença estatisticamente significativa quando comparados com grupo controle, onde $*P \leq 0,05$. A estatística foi feita no *GraphPad Prism 9.0* com os testes de *Kruskall-Wallis* seguido do teste *Dunn's*.

Esta linhagem tumoral apresentou expressiva fragmentação do DNA, a maior de todo o experimento. Tanto a cisplatina como o IC₅₀ apresentaram aumento significativo importante da fragmentação do DNA quando comparamos com o grupo controle, sugerindo que essa linhagem tumoral é mais sensível ao tratamento.

Para a linhagem não tumoral NIH3T3 os resultados da fragmentação do DNA estão representados na figura 26.

Figura 26: Avaliação da fragmentação do DNA das células NIH3T3.

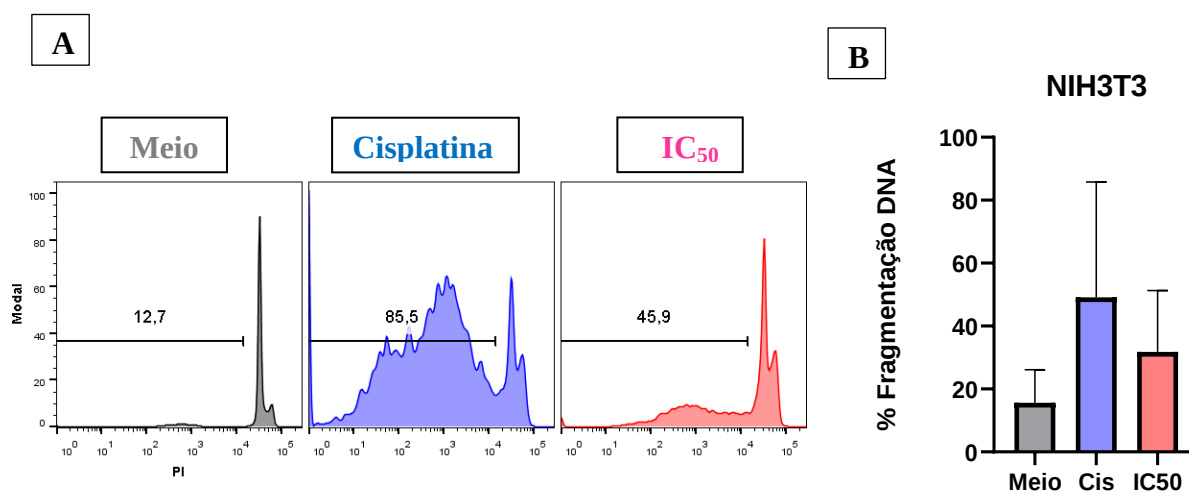


Figura 26: Avaliação da fragmentação de DNA por citometria de fluxo após 24 horas de exposição ao IC₅₀ do chá de ayahuasca (2,5 mg/mL), cisplatina (controle positivo) na concentração de 200 μ M e controle negativo (meio), em linhagem de fibroblasto – NIH3T3. Os resultados aqui apresentados são representativos de 3 experimentos independentes com 3 repetições cada. A- painéis feitos no *FlowJo*. B- Os dados estão expressos média $\pm$ desvio padrão. O asterisco indica diferença estatisticamente significativa quando comparados com grupo controle, onde * $P \leq 0,05$. A estatística foi feita no *GraphPad Prism 9.0* com os testes de ANOVA seguido do teste *Tukey*.

Ainda que a fragmentação tenha aumentado quando comparamos grupos tratados e controle esse aumento não foi significativo. Como a fragmentação foi considerada moderada, o experimento de ciclo celular não pode ser realizado.

7.2.3.2- Perfil de morte celular

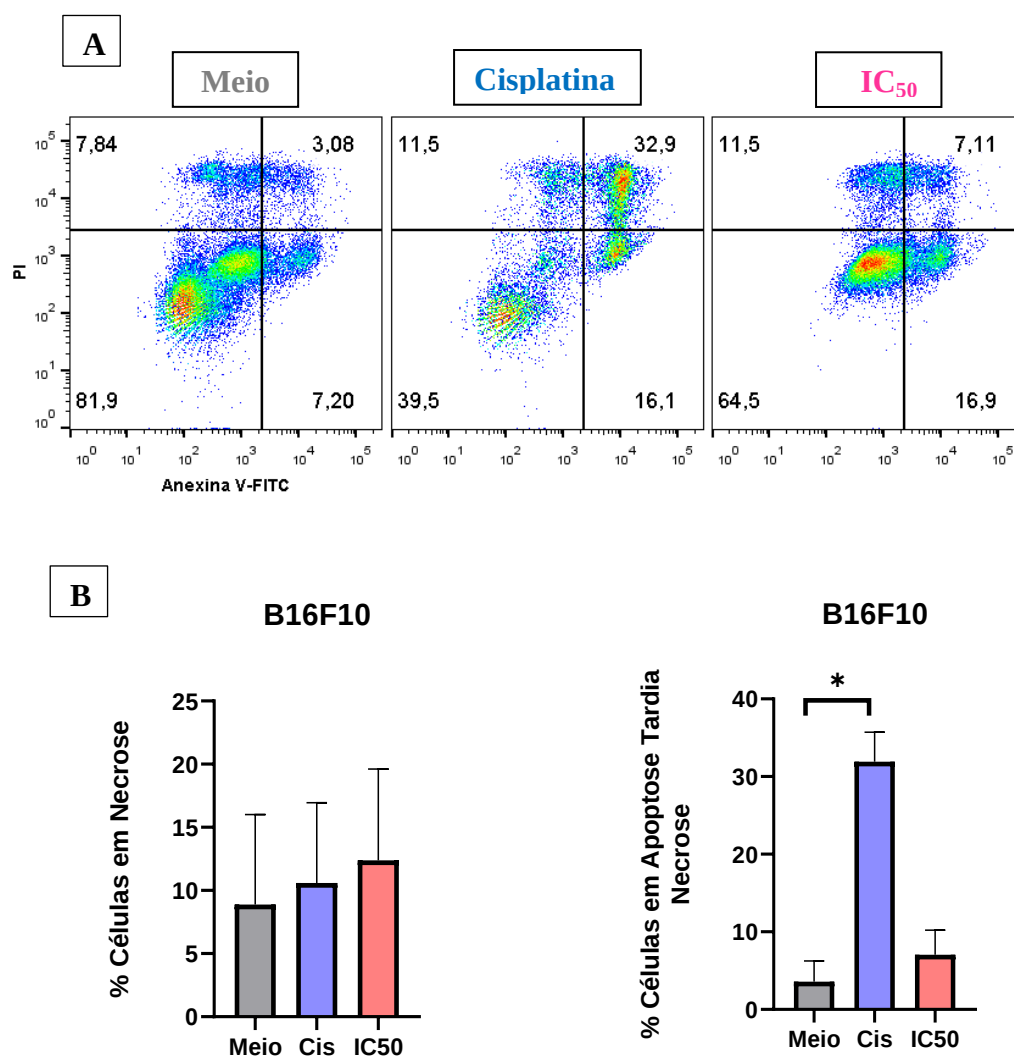
Para analisar o perfil de morte celular as células das linhagens experimentais testadas foram tratadas com ayahuasca com concentração do IC₅₀, cisplatina a 200 μ M (controle positivo) e meio (controle negativo). Após 24 horas as células foram marcadas com Anexina-V (FITC) e Iodeto Propídeo (PI) e analisadas por citometria de fluxo.

O ajuste dos parâmetros do equipamento para a detecção dos 2 marcadores foi realizada utilizando células sem tratamento e sem marcação, sem tratamento marcadas

apenas com Anexina-V, apenas com PI e marcadas com ambos. O mesmo foi feito para as células tratadas tanto com cisplatina e com o chá de ayahuasca, células sem tratamento e sem marcação, sem tratamento e com marcação, com tratamento e sem marcação e com tratamento e com marcação, isso porque o chá de ayahuasca e a cisplatina apresentam fluorescência. A detecção da marcação por Anexina-V é representada pelo eixo X (FITC) e a detecção do PI corresponde ao eixo Y. Os gráficos *Dot Plots* estão divididos em 4 quadrantes. O quadrante 1 (Q1) representa as células marcadas apenas com PI, o quadrante 2 (Q2) marcadas com PI e Anexina-V, o quadrante 3 (Q3) marcadas apenas com Anexina-V e o quadrante 4 (Q4) as células não marcadas. Essa divisão foi utilizada como padrão para determinar a marcação das células após os diferentes tratamentos.

Os *Dot Plots* e histogramas da figura 27 representam os resultados do perfil de morte das células da linhagem tumoral B16F10.

Figura 27: Avaliação do perfil de morte das células B16F10.



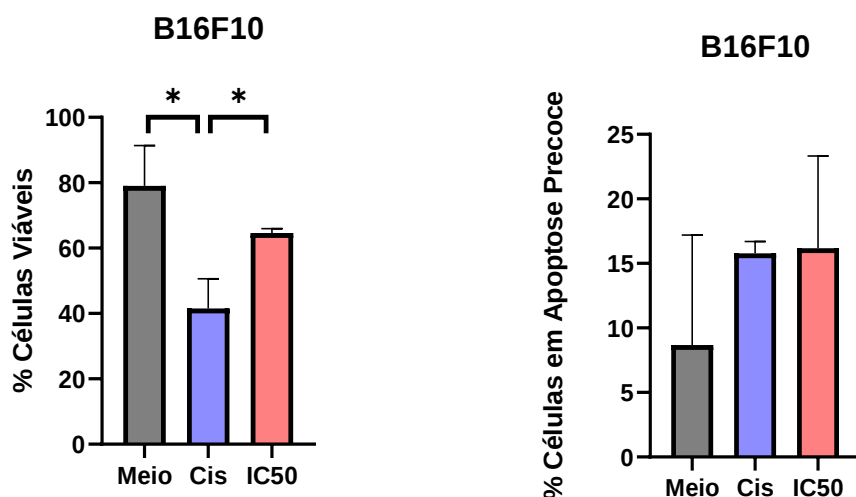


Figura 27: Avaliação do perfil de morte celular através da marcação com Anexina V-FITC e Iodeto de Propídeo (PI) por citometria de fluxo após 24 horas de exposição ao IC₅₀ do chá de ayahuasca (1 mg/mL), cisplatina (controle positivo) na concentração de 200 μ M e controle negativo (meio), em linhagem de melanoma – B16F10. Os resultados aqui apresentados são representativos de 3 experimentos independentes com 3 repetições cada. A- *Dot Plots* feitos no *FlowJo*. B- Os dados dos histogramas estão expressos média $\pm$ desvio padrão. O asterisco indica diferença estatisticamente significativa quando comparados com grupo controle, onde $*P \leq 0,05$. A estatística foi feita no *GraphPad Prism 9.0* com os testes de ANOVA seguido do teste *Tukey* quando os resultados foram paramétrico e *Kruskall-Wallis* seguido do teste *Dunn's* quando os resultados foram não-paramétricos.

Houve aumento de células em necrose nos grupos controle positivo (10,60 $\pm$ 6,355%) e mais acentuada no IC₅₀ (12,39 $\pm$ 7,224%) quando comparado com o controle negativo (8,88 $\pm$ 7,126%), porém sem significância estatística. O número de células em apoptose tardia/necrose se mostrou acentuado significativamente no grupo cisplatina (31,90 $\pm$ 3,826%) quando comparado com o controle negativo (3,58 $\pm$ 2,688%). Ainda que esse tipo de morte também foi aumentada no grupo IC₅₀ (7,05 $\pm$ 3,175%) esse resultado não foi significativo estatisticamente. As células em apoptose precoce aumentaram nos grupos controle positivo (15,78 $\pm$ 0,929) e IC₅₀ (16,18 $\pm$ 7,157) quando comparado com o controle negativo (8,69 $\pm$ 8,519) porém sem relevância estatística. A porcentagem de células viáveis foi diminuída nos grupos de tratamento com destaque para o grupo tratado com cisplatina. Essa diminuição foi significativa quando comparamos o grupo tratado com cisplatina (41,50 $\pm$ 9,146%) e controle negativo (79,08 $\pm$ 12,313%) e na comparação do grupo cisplatina (41,50 $\pm$ 9,146%) e IC₅₀ (64,65 $\pm$ 1,340%).

Os *Dot Plots* e histogramas da figura 28 representam os resultados do perfil de morte das células da linhagem tumoral U87MG.

Figura 28: Avaliação do perfil de morte das células U87MG.

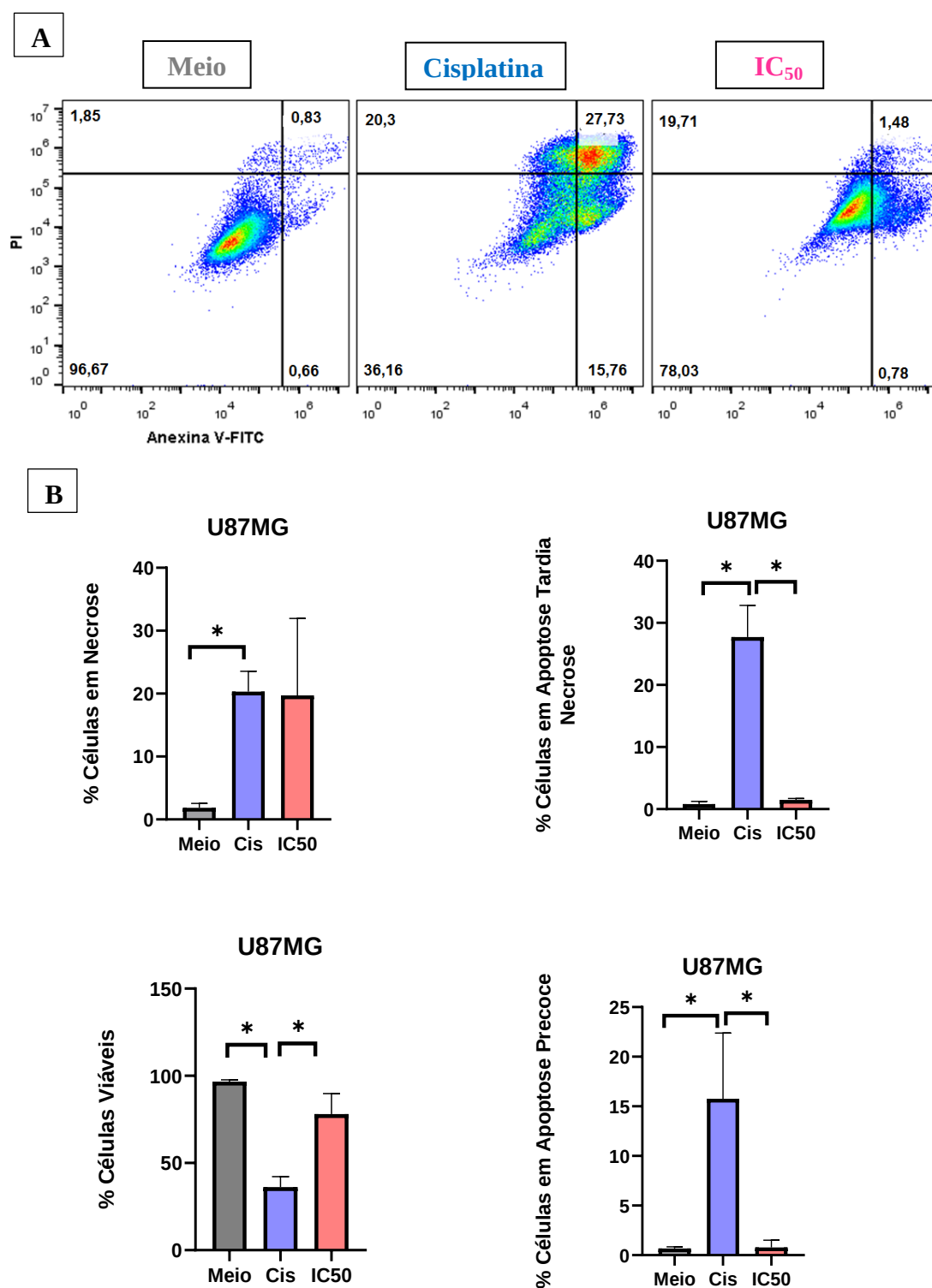


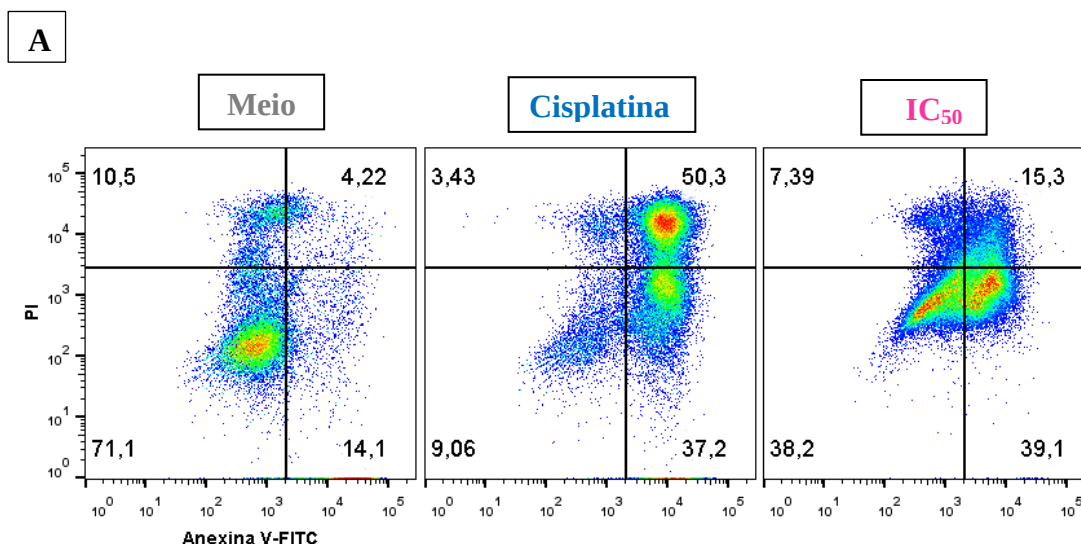
Figura 28: Avaliação do perfil de morte celular através da marcação com Anexina V-FITC e Iodeto de Propídeo (PI) por citometria de fluxo após 24 horas de exposição ao IC₅₀ do chá de ayahuasca (1,5 mg/mL), cisplatina (controle positivo) na concentração de 200 μ M e controle negativo (meio), em linhagem de glioblastoma – U87MG. Os resultados aqui apresentados são representativos de 3 experimentos independentes com 3 repetições cada. A- *Dot Plots* feitos no *FlowJo*. B- Os dados dos histogramas estão expressos média $\pm$ desvio padrão. O asterisco indica diferença estatisticamente significativa quando comparados com grupo controle, onde $*P \leq 0,05$. A estatística foi feita no *GraphPad*

Prism 9.0 com os testes de ANOVA seguido do teste *Tukey* quando os resultados foram paramétrico e *Kruskall-Wallis* seguido do teste *Dunn's* quando os resultados foram não-paramétricos.

Quando comparado com o grupo controle negativo ($1,85 \pm 0,707\%$) houve aumento significativo de células em necrose nas células tratadas com cisplatina ($20,30 \pm 3,251\%$), já o tratamento com IC_{50} ($19,71 \pm 12,23\%$) o aumento de células necróticas, ainda que elevado, não foi estatisticamente significativo. Houve aumento significativo de células em apoptose tardia/necrose quando comparamos o grupo tratado com cisplatina ($27,73 \pm 5,095\%$) com o grupo controle negativo ($0,83 \pm 0,244\%$) e com o grupo tratado com IC_{50} ($1,48 \pm 0,22\%$). Esse mesmo perfil de resultado aconteceu com as células em apoptose precoce, em que as células tratadas com cisplatina ($15,77 \pm 6,616\%$) aumentaram significativamente quando comparadas com as células tratadas com IC_{50} ($0,786 \pm 0,718\%$) e quando comparadas com as células tratadas com meio ($0,67 \pm 0,175\%$). Em relação às células viáveis notou-se uma redução significativa dos grupos tratados quando comparamos ao grupo controle ($96,67 \pm 0,971\%$), a cisplatina atingiu a marca de ($36,17 \pm 6,058\%$) e IC_{50} ($78,03 \pm 11,76\%$).

A avaliação do perfil de morte da linhagem tumoral MCF7 está representada nos *Dot Plots* e histogramas da figura 29.

Figura 29: Avaliação do perfil de morte das células MCF7.



B

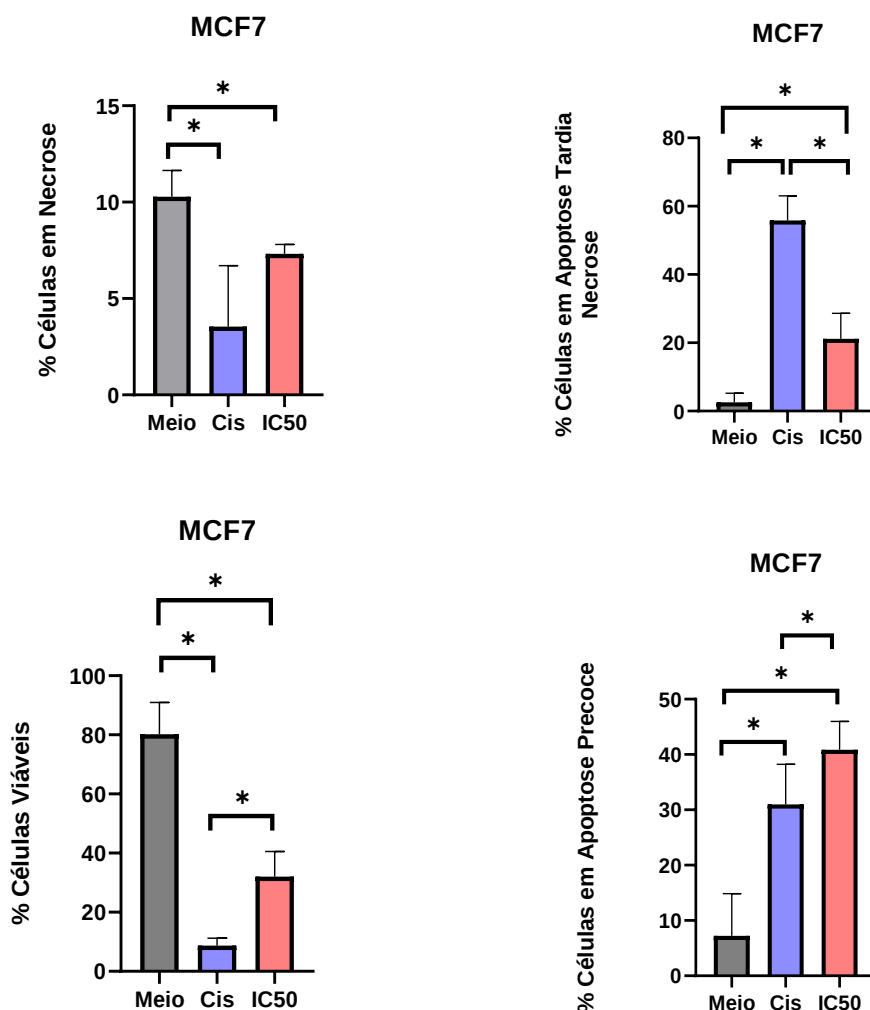


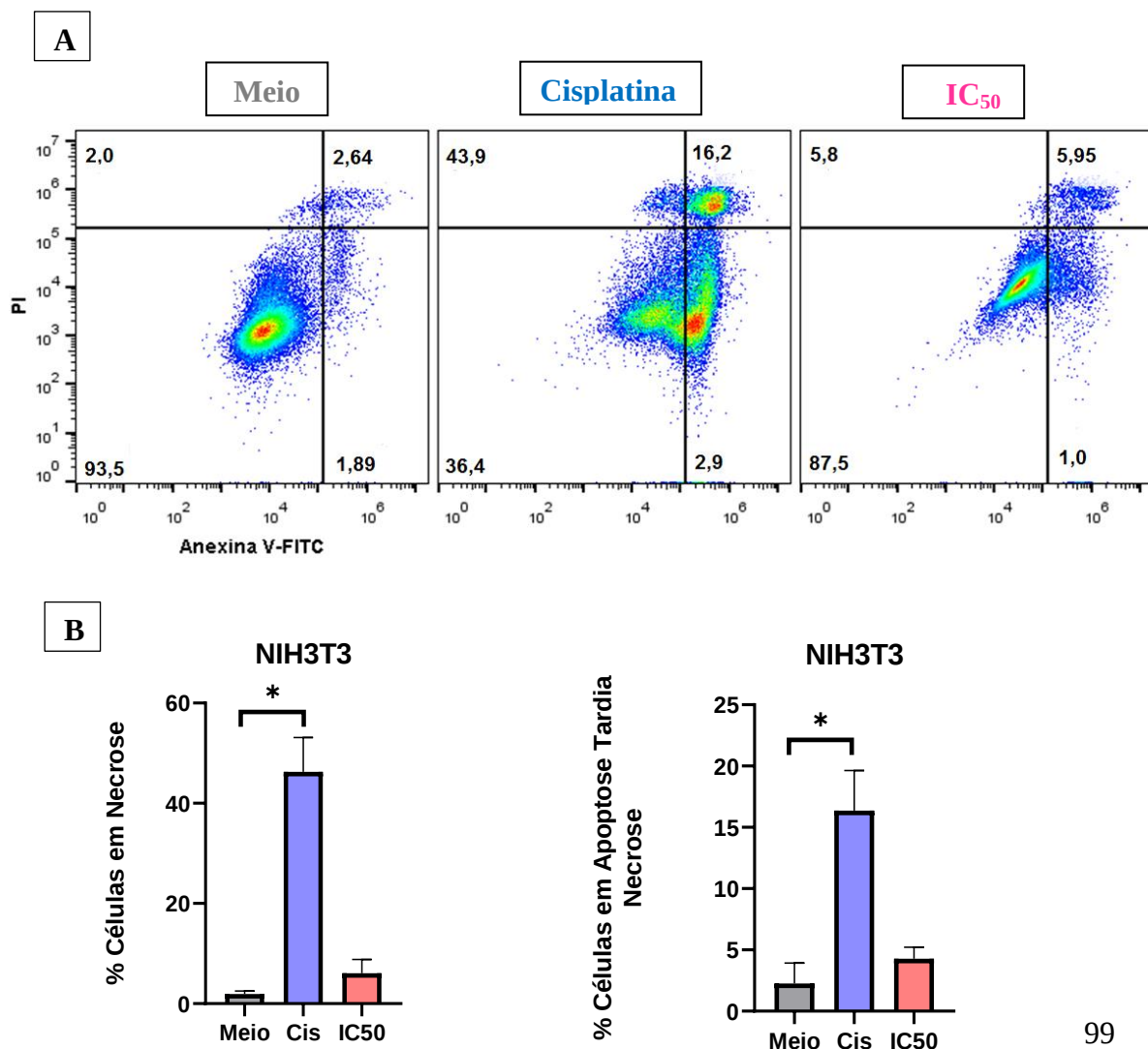
Figura 29: Avaliação do perfil de morte celular através da marcação com Anexina V-FITC e Iodeto de Propídeo (PI) por citometria de fluxo após 24 horas de exposição ao IC₅₀ do chá de ayahuasca (2,5 mg/mL), cisplatina (controle positivo) na concentração de 200 μ M e controle negativo (meio), em linhagem de câncer de mama – MCF7. Os resultados aqui apresentados são representativos de 3 experimentos independentes com 3 repetições cada. A- Dot Plots feitos no *FlowJo*. B- Os dados dos histogramas estão expressos média $\pm$ desvio padrão. O asterisco indica diferença estatisticamente significativa quando comparados com grupo controle, onde $*P \leq 0,05$. A estatística foi feita no *GraphPad Prism 9.0* com os testes de ANOVA seguido do teste *Tukey* quando os resultados foram paramétrico e *Kruskall-Wallis* seguido do teste *Dunn's* quando os resultados foram não-paramétricos.

Na linhagem MCF7 houve uma diminuição significativa dos grupos de tratamento quando comparados com o grupo controle (10,28 $\pm$ 1,366%) no que diz respeito às células em necrose. No grupo cisplatina essa diminuição foi mais acentuada (3,54 $\pm$ 3,159%) do que o grupo tratado com IC₅₀ (7,31 $\pm$ 0,489%). Em contrapartida, houve aumento significativo de células em apoptose tardia/necrose nos grupos de tratamento quando comparados com o grupo controle negativo (2,57 $\pm$ 2%). O grupo tratado com cisplatina (55,83 $\pm$ 7,179%) esse aumento foi mais acentuado do que no grupo tratado com IC₅₀ (21,15 $\pm$ 7,489%), sendo também significativo o aumento entre

esses grupos de tratamento. Em relação ao resultado de porcentagem de células em apoptose precoce o grupo mais atingido foi o tratado com o chá de ayahuasca IC₅₀ (40,86±5,097%), sendo esse aumento significativo quando comparado tanto com o controle negativo (7,23±7,33%) como os tratados com cisplatina (30,97±7,252%). Para esse tipo de morte celular também foi significativo o aumento no grupo tratado com cisplatina (30,97±7,252%) quando comparado com o controle negativo (7,23±7,33%). As células viáveis diminuíram drasticamente no grupo cisplatina (8,73±2,516%), sendo essa diminuição significativa, quando comparada com o grupo IC₅₀ (32 ±8,56%) e o grupo controle negativo (80,23±10,734%). A diminuição de células viáveis também foi significativa quando comparamos o grupo IC₅₀ (32 ±8,56%) com grupo controle negativo (80,23±10,734%).

Os resultados da linhagem não tumoral NIH3T3 em relação ao perfil de morte estão representados nos *Dot Plots* e histogramas da figura 30.

Figura 30: Avaliação do perfil de morte das células NIH3T3.



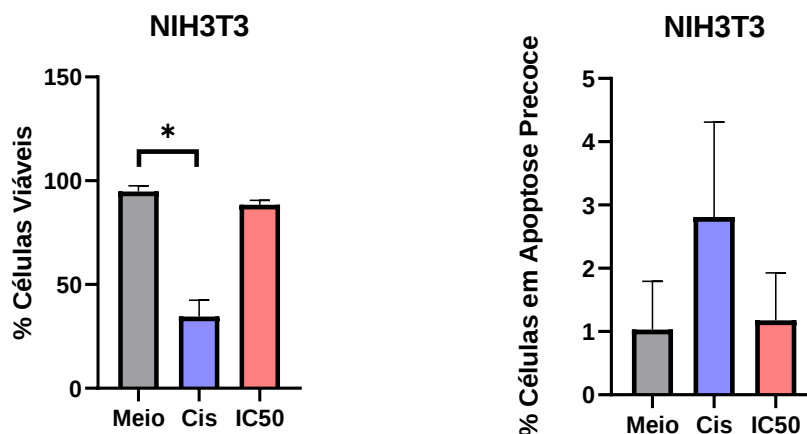


Figura 30: Avaliação do perfil de morte celular através da marcação com Anexina V-FITC e Iodeto de Propídeo (PI) por citometria de fluxo após 24 horas de exposição ao IC₅₀ do chá de ayahuasca (2,5 mg/mL), cisplatina (controle positivo) na concentração de 200 μ M e controle negativo (meio), em linhagem fibroblasto – NIH3T3. Os resultados aqui apresentados são representativos de 3 experimentos independentes com 3 repetições cada. A- *Dot Plots* feitos no *FlowJo*. B- Os dados dos histogramas estão expressos média $\pm$ desvio padrão. O asterisco indica diferença estatisticamente significativa quando comparados com grupo controle, onde $*P \leq 0,05$. A estatística foi feita no *GraphPad Prism 9.0* com os testes de ANOVA seguido do teste *Tukey* quando os resultados foram paramétrico e *Kruskall-Wallis* seguido do teste *Dunn's* quando os resultados foram não-paramétricos.

Na linhagem não tumoral NIH3T3 as células em necrose tratadas com cisplatina (46,25 $\pm$ 6,88%) aumentaram significativamente quando comparadas ao grupo controle (1,93 $\pm$ 0,597%) e sem significância quando comparadas ao grupo IC₅₀. Os grupos em tratamento aumentaram suas células em apoptose tardia/necrose, que foi significativa no grupo cisplatina (16,37 $\pm$ 3,278%) e sem significância no grupo IC₅₀, comparado ao grupo controle (2,27 $\pm$ 1,653%). As células em apoptose precoce aumentaram, tanto no grupo cisplatina, quanto no grupo tratado com chá de ayahuasca, porém não foi significativo quando comparado ao grupo controle. As células viáveis tratadas com cisplatina (34,57 $\pm$ 7,896%) diminuíram significativamente quando comparadas ao grupo controle (94,77 $\pm$ 2,771%) e sem significância no grupo IC₅₀.

7.3- Experimentos *in vivo*

7.3.1- Avaliação clínica dos animais

Os sinais clínicos dos animais foram avaliados diariamente. Após os tratamentos, os animais do grupo controle negativo não apresentaram anormalidades clínicas. Dois animais do grupo controle positivo (cisplatina 4mg/kg) apresentaram alopecia dorsal na região do pescoço e um animal deste grupo foi a óbito no último dia de tratamento.

Os animais que receberam como tratamento a dose usual do chá de ayahuasca (1X) não apresentaram alterações comportamentais nem clínicas, já os animais do grupo que receberam duas vezes a dose usual do chá de ayahuasca (2X) apresentaram: tremores, piloereção, letargia e rastejavam. Um animal desse grupo foi a óbito 12 horas depois do

último dia de tratamento após um episódio de convulsão. Os animais do grupo 5X, após tratamento, apresentavam: tremores, diarreia, letargia, piloereção, rangiam os dentes e vocalizavam. Um animal desse grupo foi a óbito no terceiro dia de tratamento.

Realizamos tratamentos com dois grupos de animais (cada grupo com 4 animais) que receberam 10X e 15X a dose usual do chá de ayahuasca. No grupo que recebeu o tratamento de 10X os animais vieram a óbito com 12 horas após o início do tratamento e o grupo que recebeu 15X vieram a óbito com 6 horas após a ingestão do chá de ayahuasca. Todos os oito animais foram a óbito após episódios de convulsão. Assim, descontinuamos estas doses.

Outro parâmetro analisado para avaliar a saúde animal foi o acompanhamento do peso que está representado na tabela 2.

Tabela 2: Acompanhamento do Peso Animal

Peso Animal (g)	Controle Negativo n=8	Controle Positivo n=7	Controle Sem Tumor n=8	1X n=8	2X n=7	5X n=7
D (0)	20,66±1,51 ^a	22,41±1,2 ^{a,b,c}	21,05±1,11 ^{a,b,c}	22,91±0,85 ^b	20,83±0,66 ^c	21,35±2 ^{a,b,c}
D (7)	21,64±1,83	23,26±0,99	22,35±0,83	22,8±2,9	21,46±0,85	22,12±1,7
D (10)	21,72±1,84	19,97±2	22,91±0,77	22,72±2,39	20,19±1,77	20,04±2,47
D (13)	21,1±2 ^{a,b}	19,4±2,25 ^a	23,55±0,77 ^b	21,21±2,78 ^{a, b}	20,5±1,29 ^{a,b}	19,7±2,1 ^a
D (16)	21,34±1,77 ^{a,b}	18,29±2,58 ^a	24,06±0,53 ^b	21,54±1,9 ^{a,b}	21,4±2,43 ^{a,b}	20,16±2,15 ^a
D (19)	20,75±1,83 ^a	17,97±2,56 ^a	24,81±0,59 ^b	20,92±1,81 ^a	21,01±2,44 ^a	19,51±2,31 ^a

Tabela 2: D(0) dia da inoculação das células de B16F10; D(7) dia do início do tratamento dos animais; D(10), D(13) e D(16) acompanhamento do peso animal; D(19) dia da eutanásia. Grupos: controle negativo- tratados com água, controle positivo- tratados com cisplatina a 4mg/kg, controle sem tumor- grupo sem tumor e sem tratamento, 1X- tratados com a dose usual do chá de ayahuasca; 2X- tratados com duas vezes a dose usual do chá de ayahuasca; 5X- tratados com cinco vezes a dose usual do chá de ayahuasca. Unidade (g) grama. O asterisco indica diferença estatisticamente significativa, onde *P≤0,05. Todos os dados foram apresentados como média ± desvio padrão. A estatística foi feita no *GraphPad Prism 9.0* com os testes de *Kruskall-Wallis* seguido do teste *Dunn's*.

A partir do 10º dia de experimento houve uma redução, não significativa, da média do peso dos animais dos grupos controle positivo e as duas doses mais altas do chá de ayahuasca (2X e 5X). A partir do 13º dia, essa redução passou a ser significativa quando comparamos o grupo sem tumor e sem tratamento com o grupo controle positivo e o grupo de maior dose de tratamento (5X). Essa diferença permaneceu no 16º dia de experimento. No 19º dia de experimento essa redução significativa da média dos pesos atingiu todos os grupos tratados com ayahuasca quando comparados com o grupo sem tumor e sem tratamento. Nessa fase final da experimentação os grupos controle

positivo e negativo também apresentaram uma redução de peso quando comparados com o grupo sem tumor e sem tratamento.

Conforme apresentado na tabela 3, os resultados de volume tumoral foram crescentes ao longo do período experimental. O histograma da figura 31 representa volume tumoral no dia da eutanásia.

Tabela 3: Volume Tumoral *in vivo*

Volume Tumoral (mm ³)	Controle Negativo n=8	Controle Positivo n=7	1X n=8	2X n=7	5X n=7
D (7)	41,26±18,03	20,27±21,77	25,42±18,61	24,01±8,36	29,9±28,76
D (10)	109,53±52,75	52,25±36,52	71,52±45,07	76,99±23,14	97,12±81,46
D (13)	238,45±157,67	148,55±53,32	220,63±130,85	189,1±85,07	200,15±98,68
D (16)	506,79±188,25	322,73±96,21	429,68±254,36	386,14±117,05	440,52±209,64
D (19)	886,75±277,35	653,35±250,21	727,01±392,94	1025,85±357,75	694,11±291,4

Tabela 3: Variação do volume tumoral absoluto em camundongos C57BL6 portadores de melanoma. O volume do tumor foi medido com paquímetro digital. D(0) dia da inoculação das células de B16F10; D(7) dia do início do tratamento dos animais; D(10), D(13) e D(16) acompanhamento do volume tumoral; D(19) dia da eutanásia. Grupos: controle negativo- tratados com água, controle positivo- tratados com cisplatina a 4mg/kg, 1X- tratados com a dose usual do chá de ayahuasca; 2X- tratados com duas vezes a dose usual do chá de ayahuasca; 5X- tratados com cinco vezes a dose usual do chá de ayahuasca. Unidade (mm³) milímetros cúbicos. O asterisco indica diferença estatisticamente significativa, onde *P≤0,05. Todos os dados foram apresentados como média ± desvio padrão. A estatística foi feita no *GraphPad Prism* 9.0 com os testes de *Kruskall-Wallis* seguido do teste *Dunn's*.

Figura 31: Volume tumoral no dia da eutanásia animal.

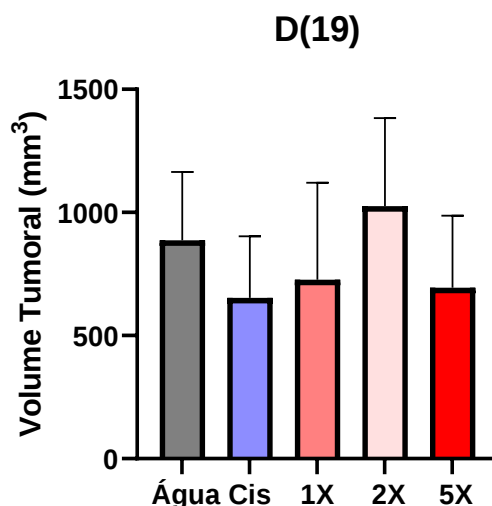


Figura 31: Comparação do volume tumoral no último dia de experimento entre os grupos. Grupos: controle negativo- tratados com água, controle positivo- tratados com cisplatina a 4mg/kg, 1X- tratados com a dose usual do chá de ayahuasca; 2X- tratados com duas vezes a dose usual do chá de ayahuasca; 5X- tratados com cinco vezes a dose usual do chá de ayahuasca. Unidade (mm³) milímetros cúbicos. O asterisco indica diferença estatisticamente significativa, onde *P≤0,05. Todos os dados foram

apresentados como média $\pm$ desvio padrão. A estatística foi feita no *GraphPad Prism 9.0* com os testes de *Kruskall-Wallis* seguido do teste *Dunn's*.

Ao longo do tratamento, conforme o esperado, os animais tratados com controle positivo (cisplatina 4mg/kg) apresentaram menor volume tumoral. É importante ressaltar que o animal 4 do grupo 1X apresentou metástase que gerou um tumor secundário próximo ao estômago pesando 1,169 gramas, nesse mesmo grupo o animal 6 apresentou um tumor espalhado por toda a lateral direita do corpo do animal. Curiosamente os animais tratados com 2X a dose do chá de ayahuasca apresentaram os maiores volumes tumorais quando comparados com os demais grupos (figura 32), entretanto essa diferença não foi significativa. Nesse mesmo grupo o animal 4 apresentou um tumor espalhado por toda a lateral direita (metástase) do corpo (figura 33).

Figura 32: Imagem representativa do tumor.



Figura 32: Imagem representativa do tumor no dia da eutanásia.

Fonte: Luciana Gueiros em 01/12/2023.

Figura 33: Metástase de tumor de melanoma induzido por B16F10.



Figura 33: Metástase de tumor de melanoma dos animais tratados com 2X a dose do chá de ayahuasca.

Fonte: Luciana Gueiros em 01/12/2023.

7.3.2- Análises hematológicas

Os resultados das análises de sangue estão na tabela 4.

Tabela 4: Eritrograma.

	Controle Negativo n=8	Controle Positivo n=7	Controle Sem Tumor n=8	1X n=8	2X n=7	5X n=7
RBC ($10^6/\mu\text{L}$)	5,98 $\pm$ 1,68	6,18 $\pm$ 1,73	6,94 $\pm$ 1,32	6,14 $\pm$ 2,67	5,58 $\pm$ 1,65	7,71 $\pm$ 0,96
HGB (g/dL)	8,31 $\pm$ 2,54	9,27 $\pm$ 2,58	10,25 $\pm$ 1,96	8,96 $\pm$ 3,8	8 $\pm$ 2,56	11,49 $\pm$ 1,43
HCT (%)	28,2 $\pm$ 7,88	28,77 $\pm$ 8,1	32,35 $\pm$ 6,26	28,69 $\pm$ 12,1	26,75 $\pm$ 7,78	36,35 $\pm$ 4,59
MCV (fL)	47,29 $\pm$ 1,34	46,71 $\pm$ 1,43	46,65 $\pm$ 0,77	47,41 $\pm$ 3,4	48,11 $\pm$ 1,34	47,29 $\pm$ 0,95
MCH (pg)	13,8 $\pm$ 1,15 ^a	14,96 $\pm$ 0,84 ^{a,b}	14,74 $\pm$ 0,27 ^{a, b}	14,69 $\pm$ 0,73 ^{a,b}	14,22 $\pm$ 1 ^{a,b}	14,85 $\pm$ 0,26 ^b
MCHC (g/dL)	29,35 $\pm$ 2,97	32,17 $\pm$ 1,79	31,67 $\pm$ 0,85	31,2 $\pm$ 0,86	29,67 $\pm$ 1,78	31,55 $\pm$ 0,39
RDW (%)	15,74 $\pm$ 0,76 ^{a,b}	14,63 $\pm$ 1,08 ^a	15,35 $\pm$ 0,57 ^{a,b}	16,51 $\pm$ 1,03 ^b	16,1 $\pm$ 0,81 ^{a,b}	15,85 $\pm$ 0,40 ^{a,b}

Tabela 4: RBC- contagem de células vermelhas; HGB- hemoglobina; HCT- hematócrito; MCV-volume corpuscular médio; MCH- hemoglobina corpuscular média; MCHC- concentração de hemoglobina corpuscular média; RDW- amplitude de distribuição dos eritrócitos. Grupos: controle negativo- tratados com água, controle positivo- tratados com cisplatina a 4mg/kg, controle sem tumor- grupo sem tumor e sem tratamento, 1X- tratados com a dose usual do chá de ayahuasca; 2X- tratados com duas vezes a dose usual do chá de ayahuasca; 5X- tratados com cinco vezes a dose usual do chá de ayahuasca. Unidades de

medida: μL - microlitros; g/dL - gramas por decilitro; fL- femtolitros; pg-picogramas. O asterisco indica diferença estatisticamente significativa, onde $*P \leq 0,05$. Todos os dados foram apresentados como média $\pm$ desvio padrão. A estatística foi feita no *GraphPad Prism 9.0* com os testes de *Kruskal-Wallis* seguido do teste *Dunn's*.

Os resultados do eritrograma revelaram em relação à hemoglobina corpuscular média (MCH) uma tendência de aumento em grupos tratados com ayahuasca que foi significativa quando comparado o grupo controle negativo e 5X. A amplitude de distribuição dos eritrócitos (RDW) mostrou uma tendência de aumento em grupos tratados com ayahuasca com exceção da maior dose, por outro lado, houve uma diminuição significativa quando comparamos o grupo tratado com cisplatina e tratado com a menor dose de ayahuasca. Ainda que os resultados para contagem de células vermelhas (RBC), hemoglobina (HGB) e hematócrito (HCT) estejam aumentados no grupo da maior dose (5X) e diminuídos no grupo de 2X quando comparados com os grupos controles não foram consideradas alterações significativas, $p > 0,05$.

O resultado do leucograma está apresentado na tabela 5.

Tabela 5: Leucograma.

Unidade $10^3/\mu\text{L}$	Controle Negativo n=8	Controle Positivo n=7	Controle Sem Tumor n=8	1X n=8	2X n=7	5X n=7
WBC	6,95 $\pm$ 4,35	3,94 $\pm$ 2,45	6,51 $\pm$ 5,68	5,5 $\pm$ 4,37	3,76 $\pm$ 3,18	7,09 $\pm$ 5,18
Linfócitos	5,11 $\pm$ 3,55	3,16 $\pm$ 2,2	5,23 $\pm$ 4,42	6,87 $\pm$ 10,2	2,31 $\pm$ 2,06	5,18 $\pm$ 3,93
Monócitos	0,21 $\pm$ 0,17	0,07 $\pm$ 0,07	0,15 $\pm$ 0,15	0,16 $\pm$ 0,13	0,11 $\pm$ 0,12	0,17 $\pm$ 0,18
Granulócitos	2,87 $\pm$ 3,22	0,71 $\pm$ 0,31	1,07 $\pm$ 1,12	1,36 $\pm$ 1,17	1,26 $\pm$ 1,58	1,74 $\pm$ 1,28

Tabela 5: WBC- contagem de células brancas. Grupos: controle negativo- tratados com água, controle positivo- tratados com cisplatina a 4mg/kg, controle sem tumor- grupo sem tumor e sem tratamento, 1X- tratados com a dose usual do chá de ayahuasca; 2X- tratados com duas vezes a dose usual do chá de ayahuasca; 5X- tratados com cinco vezes a dose usual do chá de ayahuasca. Unidade de medida: μL – microlitros. O asterisco indica diferença estatisticamente significativa, onde $*P \leq 0,05$. Todos os dados foram apresentados como média $\pm$ desvio padrão. A estatística foi feita no *GraphPad Prism 9.0* com os testes de *Kruskal-Wallis* seguido do teste *Dunn's*.

Com relação à série branca (leucograma) apresentado na tabela 5 não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos experimentais. Em relação à contagem de células brancas (WBC) quando comparamos os animais do grupo controle negativo com os animais tratados com o chá de ayahuasca observam-se diminuição nos grupos controle positivo, 1X e 2X e aumento no grupo de 5X. Para os linfócitos quando comparamos controle negativo com os animais tratados com o chá de ayahuasca ocorre

aumento nas doses de 1X e 5X e diminuição na dose de 2X e no grupo controle positivo. Monócitos e granulócitos quando comparados grupo controle negativo e todos os demais grupos ocorre diminuição que é mais acentuada no grupo controle positivo.

Os resultados do plaquetograma assim como a procalcitonina não foram significativamente diferentes entre os grupos experimentais, apresentados na tabela 6.

Tabela 6: Plaquetograma e Procalcitonina.

	Controle Negativo n=8	Controle Positivo n=7	Controle Sem Tumor n=8	1X n=8	2X n=7	5X n=7
PLT (10 ³ /uL)	603,87±419,14	728,86±689,22	438,5±355,55	657,43±715,18	398,14±410,66	838,5±494,94
MPV (fL)	5,17±0,72	5,11±0,64	5,31±0,43	5,18±0,37	5,37±0,68	4,97±0,43
PDW	16,34±1,03	16,46±1,05	16,8±1,14	16,66±0,97	16,84±0,76	16,4±0,89
PCT (%)	0,3±0,19	0,23±0,24	0,22±0,17	9,99±26,12	0,2±0,19	0,4±0,22

Tabela 6: PLT- plaquetas; MPV- volume plaquetário médio; PDW- tamanho das plaquetas e PCT- procalcitonina. Grupos: controle negativo- tratados com água, controle positivo- tratados com cisplatina a 4mg/kg, controle sem tumor- grupo sem tumor e sem tratamento, 1X- tratados com a dose usual do chá de ayahuasca; 2X- tratados com duas vezes a dose usual do chá de ayahuasca; 5X- tratados com cinco vezes a dose usual do chá de ayahuasca. Unidades de medida: µL – microlitros; fL- fentolitros. O asterisco indica diferença estatisticamente significativa, onde *P≤0,05. Todos os dados foram apresentados como média ± desvio padrão. A estatística foi feita no *GraphPad Prism 9.0* com os testes de *Kruskal-Wallis* seguido do teste *Dunn's*.

Existe acentuado aumento, ainda que não significante, nas plaquetas quando comparamos os animais dos grupos controle negativo e sem tumor com os animais tratados com a ayahuasca na maior dose de tratamento com o chá de ayahuasca. Esse número aumentado também é encontrado nos animais do grupo controle positivo e 1X e diminuído no grupo de 2X. O volume plaquetário médio também estava aumentado no grupo tratado com 1X e 2X e diminuído nos grupos cisplatina e 5X quando comparado com o grupo controle negativo. O tamanho das plaquetas está aumentada nos grupos controle positivo e em todos os grupos tratados com ayahuasca quando comparados com grupo controle negativo. A procalcitonina se mostrou aumentado nos grupos tratados com 1X e 5X à dose do chá de ayahuasca quando comparado aos demais grupos, ainda que não significante.

7.3.3- Análises bioquímicas

Os resultados das análises bioquímicas do soro não apresentaram diferenças significantes e estão resumidos na tabela 7.

Tabela 7: Bioquímica.

	Controle Negativo n=8	Controle Positivo n=7	Controle Sem Tumor n=8	1X n=8	2X n=7	5X n=7
ALT (U/L)	180,33±98,1	209,2±120,4	114,88±110,6	192,17±224,5	160±55	119,6±122,3
AST (U/L)	88,25±168 ^{a,b}	13,8±12,15 ^{a,b}	251,12±218,8 ^a	67,3±126,5 ^{a,b}	4,43±2 ^b	83,1±116,5 ^{a,b}
Creatinina (mg/dL)	0,41±0,23	0,4±0,24	0,36±0,08	0,42±0,19	0,35±0,07	0,34±0,15
Ureia (mg/dL)	87±64,5	74±46,8	54,75±15,2	34,14±32	35±32	50,4±33,1
Albumina (d/dL)	2,6±0,75	2,72±0,98	3±0,78	2,26±0,46	2,4±0,3	3,4±1,7
Glicose (mg/dL)	260,75±20	251,4±17,6	253,2±26	303,8±66	270,4±87	250±22,2

Tabela 7: ALT- alanina aminotransferase; AST- aspartato aminotransferase; creatinina, ureia, albumina e glicose. Grupos: controle negativo- tratados com água, controle positivo- tratados com cisplatina a 4mg/kg, controle sem tumor- grupo sem tumor e sem tratamento, 1X- tratados com a dose usual do chá de ayahuasca; 2X- tratados com duas vezes a dose usual do chá de ayahuasca; 5X- tratados com cinco vezes a dose usual do chá de ayahuasca. Unidades de medida: U/L- microlitros; mg/dL- miligrama por decilitro e d/dL- decilitro. O asterisco indica diferença estatisticamente significativa, onde *P≤0,05. Todos os dados foram apresentados como média ± desvio padrão. A estatística foi feita no *GraphPad Prism 9.0* com os testes de *Kruskall-Wallis* seguido do teste *Dunn's*.

Os níveis de ALT do grupo controle positivo foram os mais altos quando comparados com os outros grupos experimentais, enquanto os níveis de AST foram baixos, ambos sem significância. Quando comparamos os níveis de AST houve redução significativa entre o grupo sem tumor e sem tratamento e o grupo tratado com 2X à dose usual do chá de ayahuasca. Os níveis de ureia dos animais tratados com cisplatina e todas as doses do chá de ayahuasca foram reduzidos, porém sem significância quando comparadas com os grupos controle negativo. A glicose apresentou-se diminuída no grupo tratado com cisplatina e aumentada em todos os grupos de tratamento com o chá de ayahuasca.

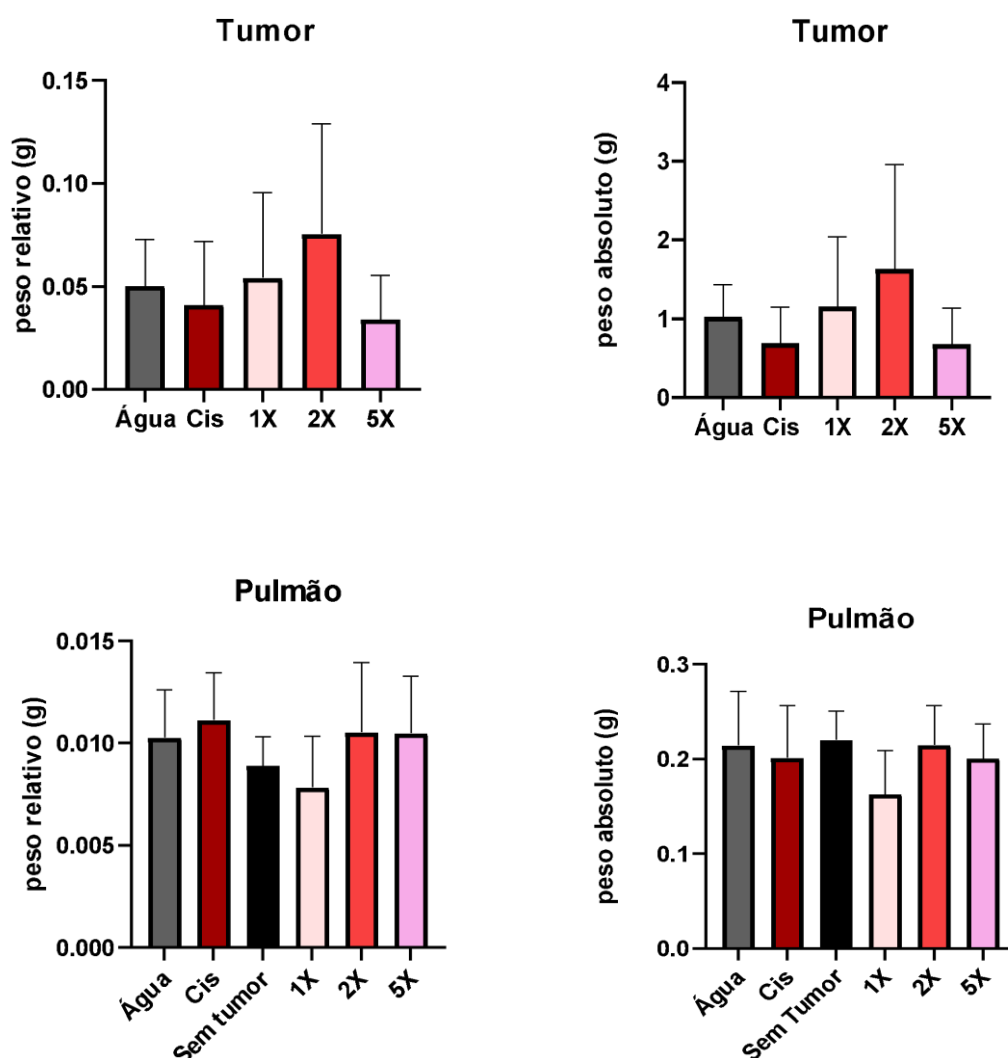
7.3.4- Análises dos órgãos sistêmicos

Além do tumor, os órgãos (cérebro, pulmão, rins, coração, fígado, baço, timo, estômago e intestino) foram avaliados em relação a alterações macroscópicas, pesados e

fixados para análises histopatológicas. Durante a observação macroscópica foram encontradas regiões esbranquiçadas no fígado e rins do animal 2 tratado com a dose usual do chá de ayahuasca. Manchas escuras foram observadas no fígado do animal 2 no grupo tratado com o chá e ayahuasca na dose de 5X, assim como no baço do animal 3, no intestino do animal 5 e no estômago do animal 6.

Os resultados para peso relativo e absoluto do tumor e órgãos como pulmão (ainda que um órgão alvo de metástase para melanoma), estômago e intestino não foram significantes estatisticamente e estão representados na figura 34.

Figura 34: Peso Relativo e Absoluto: Tumor, Pulmão, Estômago e Intestino.



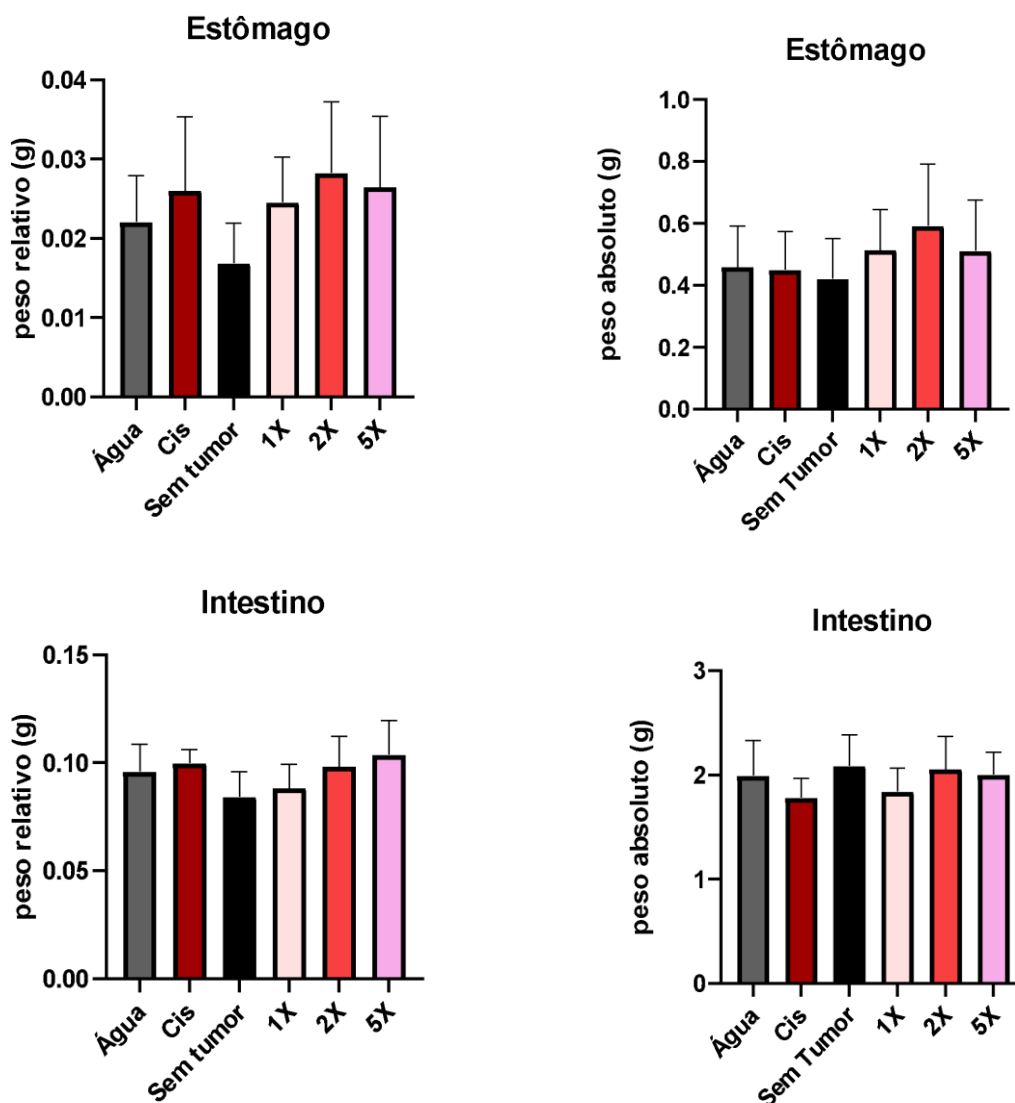


Figura 34: Comparação do peso relativo e peso absoluto do tumor e dos órgãos: pulmão, estômago e intestino entre os grupos. Grupos: controle negativo- tratados com água, controle positivo- tratados com cisplatina a 4mg/kg, controle sem tumor- grupo sem tumor e sem tratamento, 1X- tratados com a dose usual do chá de ayahuasca; 2X- tratados com duas vezes a dose usual do chá de ayahuasca; 5X- tratados com cinco vezes a dose usual do chá de ayahuasca. Unidades de medida: g – gramas. O asterisco indica diferença estatisticamente significativa, onde $*P \leq 0,05$. Todos os dados foram apresentados como média $\pm$ desvio padrão. A estatística foi feita no *GraphPad Prism 9.0* com os testes de *Kruskall-Wallis* seguido do teste *Dunn's*.

Os resultados para peso relativo do cérebro estão representados na figura 35.

Figura 35: Peso Relativo e Absoluto do Cérebro.

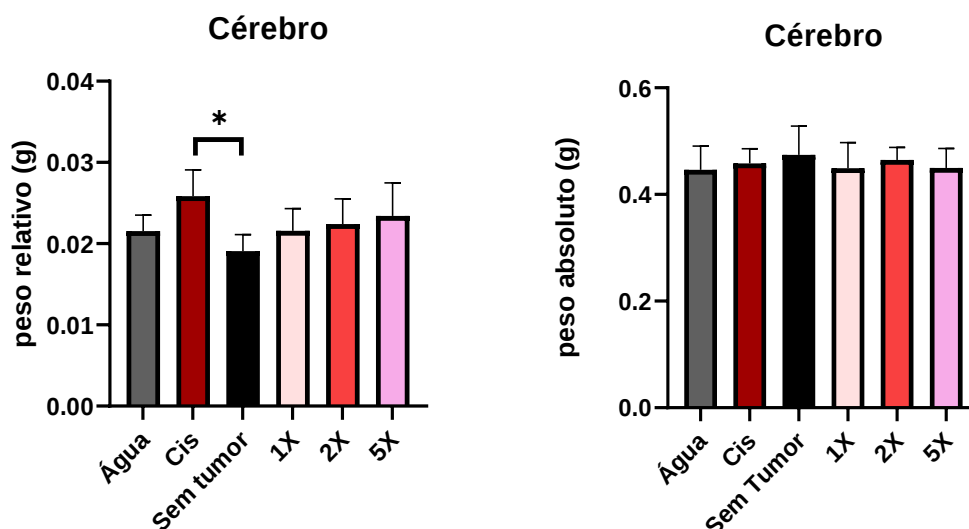


Figura 35: Comparação do peso relativo do cérebro entre os grupos. Grupos: controle negativo- tratados com água, controle positivo- tratados com cisplatina a 4mg/kg, controle sem tumor- grupo sem tumor e sem tratamento, 1X- tratados com a dose usual do chá de ayahuasca; 2X- tratados com duas vezes a dose usual do chá de ayahuasca; 5X- tratados com cinco vezes a dose usual do chá de ayahuasca. Unidades de medida: g – gramas. O asterisco indica diferença estatisticamente significativa, onde $*P \leq 0,05$. Todos os dados foram apresentados como média $\pm$ desvio padrão. A estatística foi feita no *GraphPad Prism 9.0* com os testes de *Kruskall-Wallis* seguido do teste *Dunn's*.

Os resultados mostraram aumento significativo do peso relativo do cérebro entre o grupo controle positivo e o grupo de animais sem tumor e sem tratamento. Em geral, notou-se uma tendência dos animais com tumor e em tratamento apresentarem peso relativo do cérebro maior do que o grupo de animais sem tumor e sem tratamento, essa tendência foi relacionada com a dose do chá de ayahuasca, já que, ao aumentar a dose o peso relativo do cérebro também aumentou, sem significância estatística. Em relação ao peso absoluto do cérebro, não há diferenças relevantes estatisticamente, e uma leve tendência de diminuição dos animais tratados (água, cisplatina e ayahuasca) e portadores de tumores dos animais sem tumor e sem tratamento.

Os resultados do peso relativo do coração estão apresentados na figura 36.

Figura 36: Peso Relativo e Absoluto do Coração.

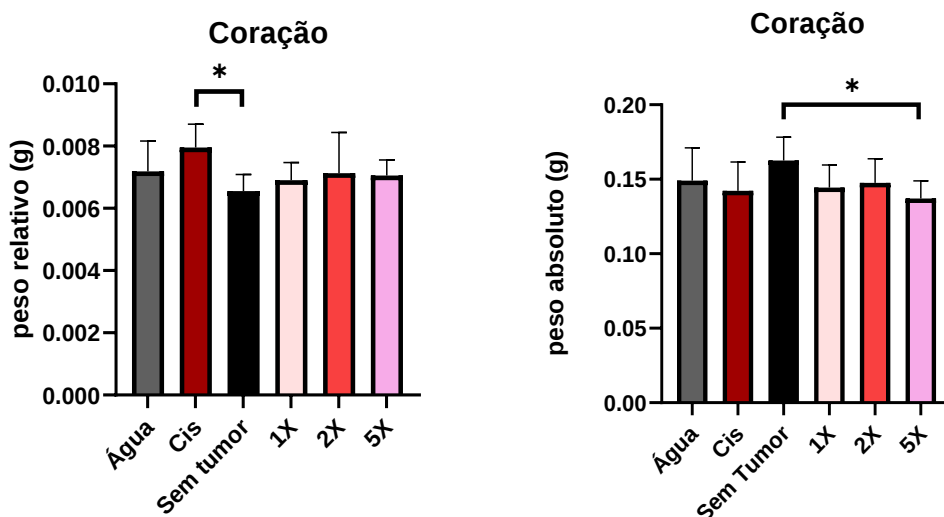


Figura 36: Comparação do peso relativo e absoluto do coração entre os grupos. Grupos: controle negativo- tratados com água, controle positivo- tratados com cisplatina a 4mg/kg, controle sem tumor- grupo sem tumor e sem tratamento, 1X- tratados com a dose usual do chá de ayahuasca; 2X- tratados com duas vezes a dose usual do chá de ayahuasca; 5X- tratados com cinco vezes a dose usual do chá de ayahuasca. Unidades de medida: g – gramas. O asterisco indica diferença estatisticamente significativa, onde $*P \leq 0,05$. Todos os dados foram apresentados como média $\pm$ desvio padrão. A estatística foi feita no *GraphPad Prism 9.0* com os testes de *Kruskall-Wallis* seguido do teste *Dunn's*.

Nota-se uma tendência de aumento do peso relativo do coração em animais tratados e com tumor, estatisticamente significativa, quando comparamos o grupo controle positivo e animais sem tumor. Quando analisamos o peso absoluto existe uma diminuição, estatisticamente significativa, quando comparamos o grupo de maior dose administrada do chá de ayahuasca (5X) e o grupo sem tumor e sem tratamento.

Os resultados do peso relativo e absoluto do timo estão apresentados na figura 37.

Figura 37: Peso Relativo e Absoluto do Timo.

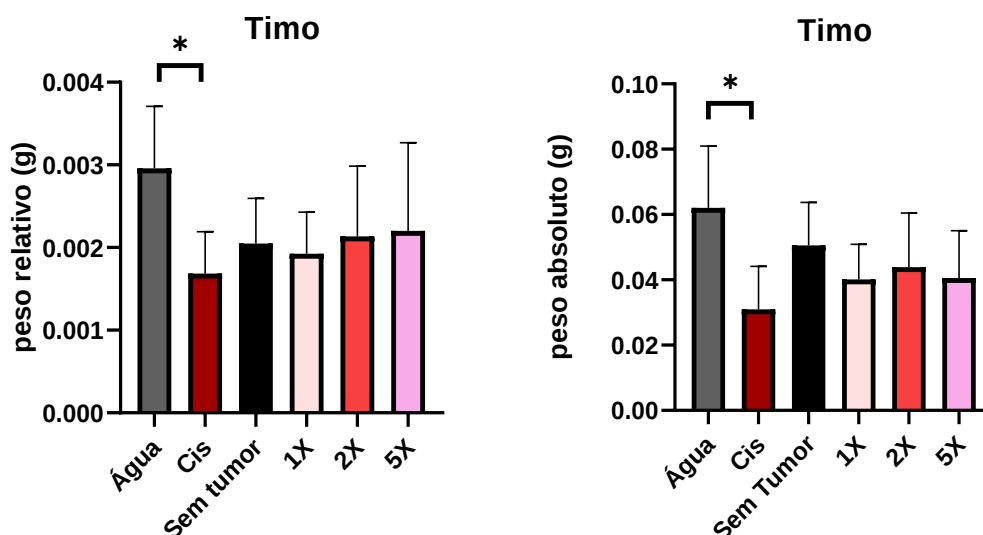


Figura 37: Comparação do peso relativo e absoluto do timo entre os grupos. Grupos: controle negativo- tratados com água, controle positivo- tratados com cisplatina a 4mg/kg, controle sem tumor- grupo sem tumor e sem tratamento, 1X- tratados com a dose usual do chá de ayahuasca; 2X- tratados com duas vezes a dose usual do chá de ayahuasca; 5X- tratados com cinco vezes a dose usual do chá de ayahuasca. Unidades de medida: g – gramas. O asterisco indica diferença estatisticamente significativa, onde $*P \leq 0,05$. Todos os dados foram apresentados como média $\pm$ desvio padrão. A estatística foi feita no *GraphPad Prism 9.0* com os testes de *Kruskall-Wallis* seguido do teste *Dunn's*.

Nota-se uma tendência de diminuição do peso relativo e absoluto do timo nos animais portadores de tumores que foram tratados com cisplatina e com ayahuasca quando comparados aos animais saudáveis, em contrapartida, os animais em que receberam como tratamento para seus tumores a água apresentaram aumento do peso relativo e

absoluto do timo, que foi significativo, quando comparado ao grupo tratado com cisplatina.

Os resultados para peso absoluto e relativo dos rins estão apresentados na figura 38.

Figura 38: Peso Relativo e Absoluto dos Rins.

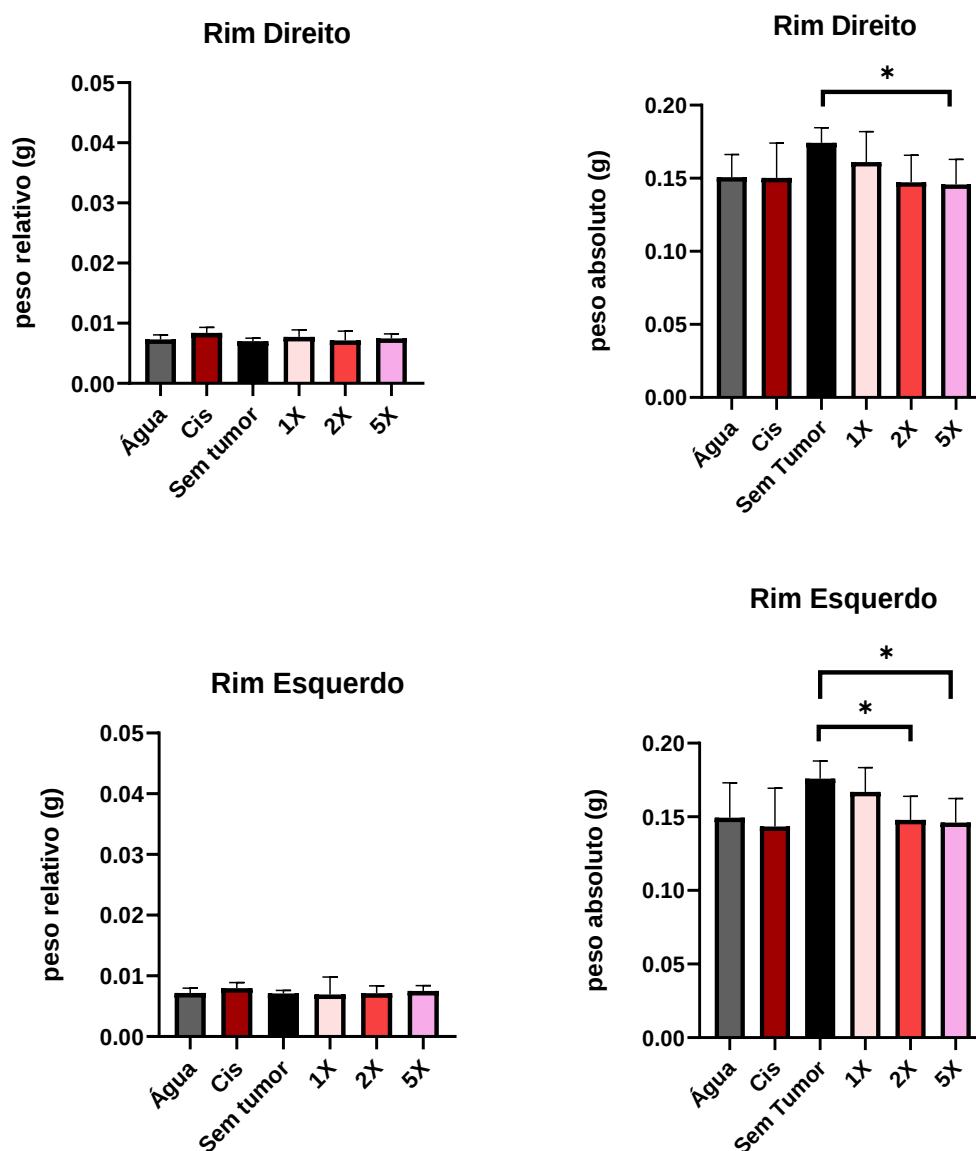


Figura 38: Comparação do peso absoluto e relativo dos rins entre os grupos. Grupos: controle negativo- tratados com água, controle positivo- tratados com cisplatina a 4mg/kg, controle sem tumor- grupo sem tumor e sem tratamento, 1X- tratados com a dose usual do chá de ayahuasca; 2X- tratados com duas vezes a dose usual do chá de ayahuasca; 5X- tratados com cinco vezes a dose usual do chá de ayahuasca. Unidades de medida: g – gramas. O asterisco indica diferença estatisticamente significativa, onde $*P \leq 0,05$. Todos os dados foram apresentados como média $\pm$ desvio padrão. A estatística foi feita no *GraphPad Prism 9.0* com os testes de *Kruskall-Wallis* seguido do teste *Dunn's*.

Não observou-se diferença significativa para peso relativo dos rins entre os grupos. O peso absoluto para o rim direito, notou-se uma diminuição do peso nos animais portadores de

tumores e tratados (cisplatina e ayahuasca) que foi significativa quando comparado o grupo sem tumor e sem tratamento e a maior dose do chá de ayahuasca (5X). Já o peso absoluto do rim esquerdo também foi notado à diminuição nos animais portadores de tumores e tratados (cisplatina e ayahuasca) que foi significativa quando comparado o grupo sem tumor e sem tratamento e as maiores doses do chá de ayahuasca (2X e 5X).

Os resultados para o peso relativo e absoluto do fígado estão apresentados na figura 39.

Figura 39: Peso Relativo e Absoluto do Fígado.

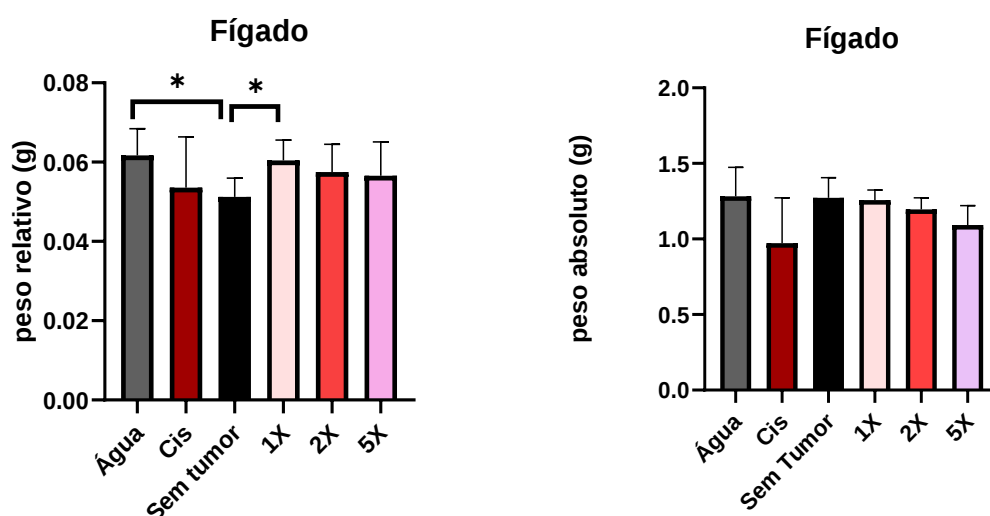


Figura 39: Comparação do peso relativo do fígado entre os grupos. Grupos: controle negativo- tratados com água, controle positivo- tratados com cisplatina a 4mg/kg, controle sem tumor- grupo sem tumor e sem tratamento, 1X- tratados com a dose usual do chá de ayahuasca; 2X- tratados com duas vezes a dose usual do chá de ayahuasca; 5X- tratados com cinco vezes a dose usual do chá de ayahuasca. Unidades de medida: g – gramas. O asterisco indica diferença estatisticamente significativa, onde $*P \leq 0,05$. Todos os dados foram apresentados como média $\pm$ desvio padrão. A estatística foi feita no *GraphPad Prism 9.0* com os testes de *Kruskall-Wallis* seguido do teste *Dunn's*.

Não foi notada diferença significativa para o peso absoluto do fígado, ainda que, tenha sido menor no grupo tratado com cisplatina. No que diz respeito ao peso relativo, em geral, todos os animais portadores de tumor apresentaram aumento do peso deste órgão, que foi significativo em relação aos animais sem tumor e o grupo tratado com água e a dose usual de ayahuasca. Os resultados para o peso do baço estão apresentados na figura 40.

Figura 40: Peso Relativo e Absoluto do Baço.

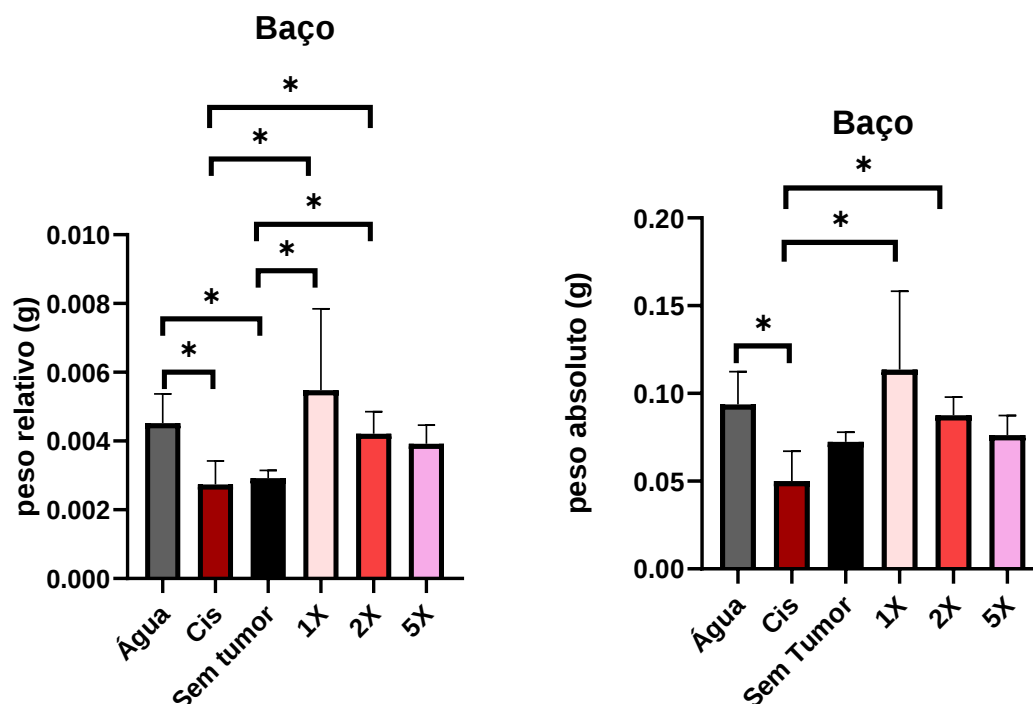


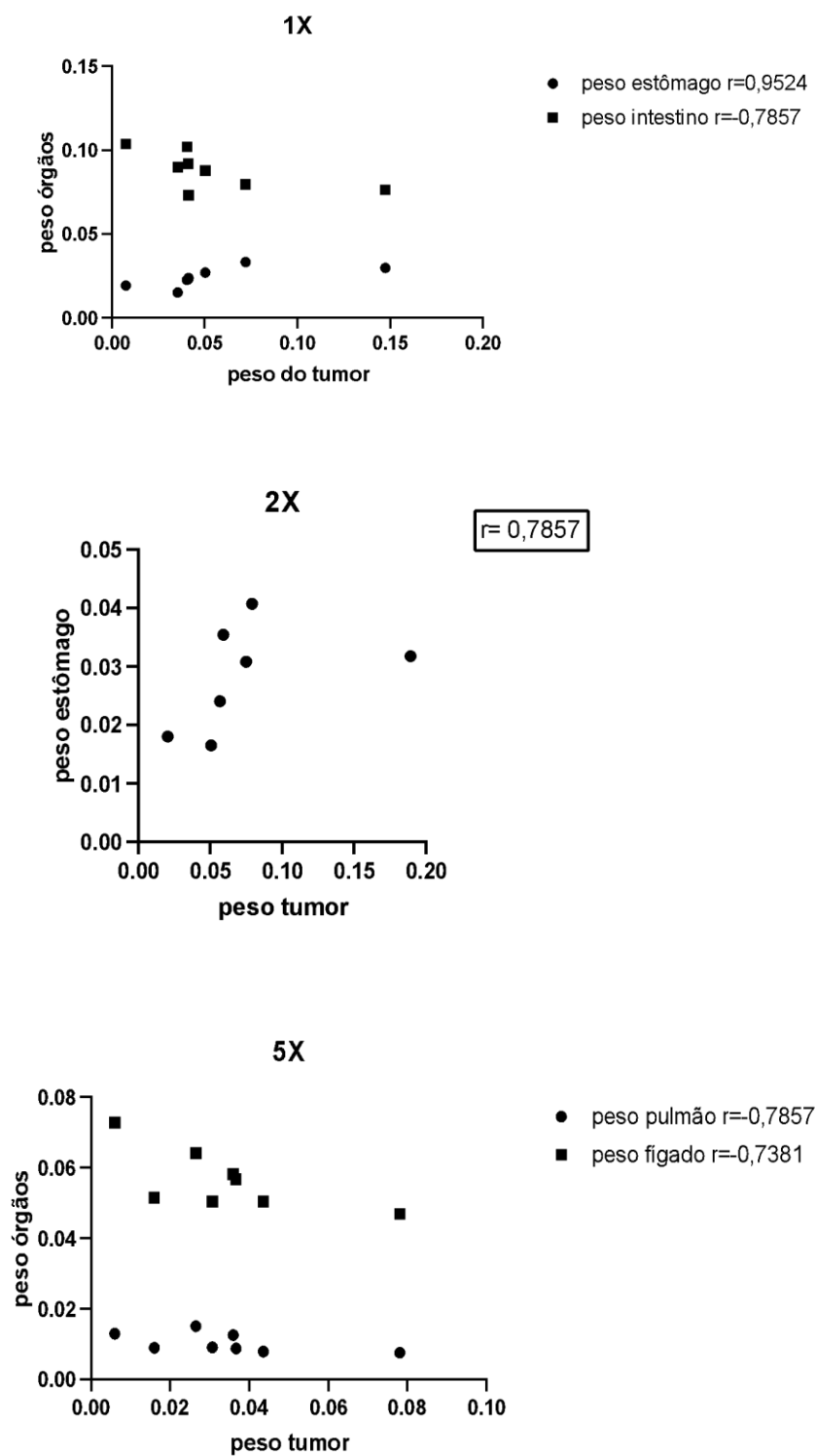
Figura 40: Comparação do peso relativo e absoluto do baço entre os grupos. Grupos: controle negativo- tratados com água, controle positivo- tratados com cisplatina a 4mg/kg, controle sem tumor- grupo sem tumor e sem tratamento, 1X- tratados com a dose usual do chá de ayahuasca; 2X- tratados com duas vezes a dose usual do chá de ayahuasca; 5X- tratados com cinco vezes a dose usual do chá de ayahuasca. Unidades de medida: g – gramas. O asterisco indica diferença estatisticamente significativa, onde $*P \leq 0,05$. Todos os dados foram apresentados como média $\pm$ desvio padrão. A estatística foi feita no GraphPad Prism 9.0 com os testes de Kruskal-Wallis seguido do teste Dunn's.

O órgão que apresentou maior variação significativa dos resultados foi o baço. Em geral houve aumento do peso deste órgão nos animais tratados. Para o peso relativo do baço o grupo tratado com a dose usual do chá de ayahuasca apresentou maior peso e os tratados com cisplatina os menores pesos. Houve aumento significativo quando comparamos os animais grupo controle negativo e o grupo tratado com cisplatina e os animais sem tumor e sem tratamento. Os animais tratados com a dose usual de ayahuasca e 2X apresentaram aumento significativo do peso quando comparados com os tratados com cisplatina e animais sem tumor e sem tratamento.

Em relação ao peso absoluto os maiores e menores pesos também foram encontrados com grupos 1X e cisplatina, respectivamente. Houve um aumento do peso deste órgão em todos os grupos tratados com ayahuasca. Esse aumento estatístico foi significativo quando comparamos o grupo controle negativo com o controle positivo, a dose usual do chá de ayahuasca e 2X com o grupo tratado com cisplatina.

As correlações de variáveis de *Spearman* estão representadas nos gráficos de dispersão na figura 41.

Figura 41: Correlações Peso do Tumor X Peso Órgão.



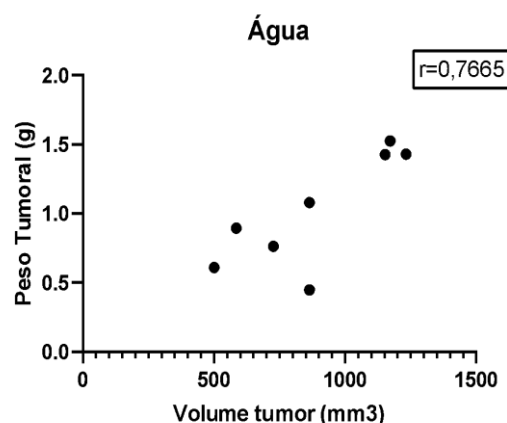


Figura 41: Correlação de variáveis: peso do tumor e peso dos órgãos. Grupos: controle negativo- tratados com água, controle positivo- tratados com cisplatina a 4mg/kg, controle sem tumor- grupo sem tumor e sem tratamento, 1X- tratados com a dose usual do chá de ayahuasca; 2X- tratados com duas vezes a dose usual do chá de ayahuasca; 5X- tratados com cinco vezes a dose usual do chá de ayahuasca. Unidades de medida: g – gramas; mm³- milímetros cúbicos. Diferença estatisticamente significativa, para *P≤0,05. Todos os dados foram apresentados como média ± desvio padrão. A estatística foi feita no *GraphPad Prism* 9.0 com o teste de correlação de variáveis *Spearman*.

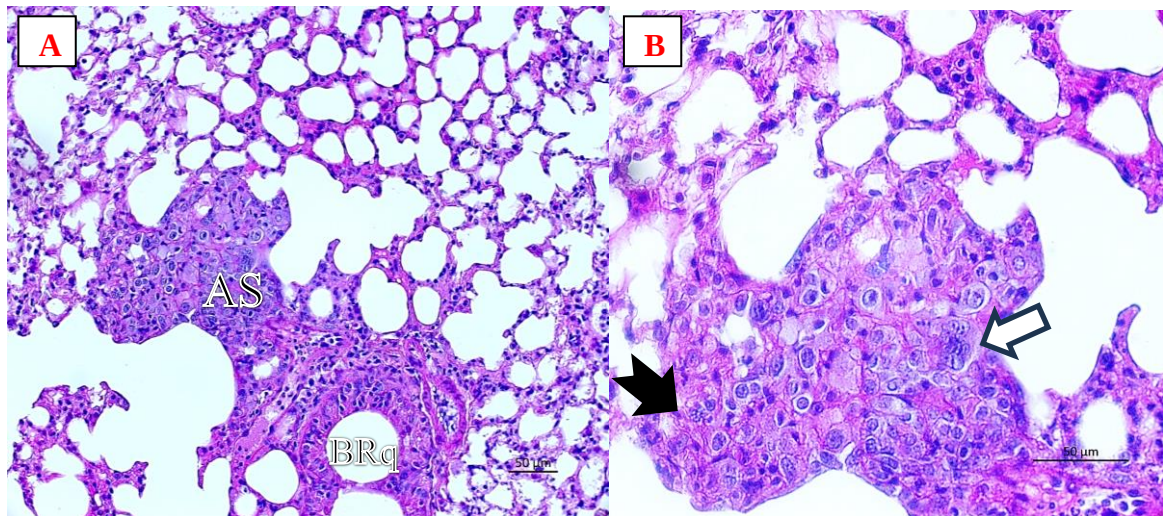
Feito o teste de correlação de variáveis de *Spearman* entre peso do tumor e peso dos órgãos foi notado que no grupo tratado com uma vez a dose usual do chá de ayahuasca (1X) existe uma correlação com significância forte no estômago e moderada no intestino. No grupo tratado com duas vezes a dose usual do chá de ayahuasca (2X) existe uma correlação com significância moderada no estômago. No grupo tratado com cinco vezes a dose usual do chá de ayahuasca (5X) existe uma correlação com significância moderada no pulmão e fígado.

Também foi feito o teste de correlação de variáveis de *Spearman* entre o peso do tumor e o volume do tumor, o resultado mostrou significância apenas no grupo controle negativo com uma correlação moderada.

7.3.4.1 – Análises histológicas

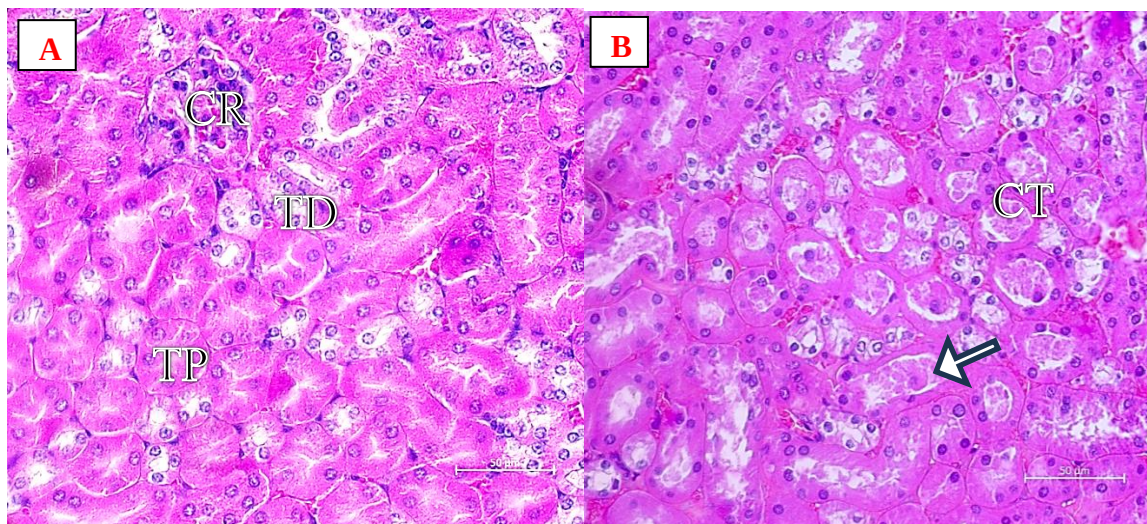
A análise histológica dos órgãos revelou alguns achados microscópicos que merecem destaque. Pulmão com hemorragia foi encontrado em 1 animal tratado com água e 2 animais tratados com 5X a dose do chá de ayahuasca, nesse mesmo grupo um animal apresentou células atípicas próximas aos brônquios (figura 42). Rins com descamação tubular foram encontrados em 1 animal tratado com água, 2 tratados com cisplatina (figura 43) e 2 tratados com a maior dose do chá de ayahuasca (5X). A porcentagem de necrose tumoral está representada na figura 44.

Figura 42: Parênquima Pulmonar.



Legenda: A- área sólida do parênquima pulmonar (AS) de células atípicas peribronquiolar (BRq), (200X); B- ampliação da imagem com indicação de célula com núcleo multilobulado e vários núcleos (seta branca) e mitose (seta preta), (400X). Lâmina de pulmão de animal tratado com ayahuasca na maior dose. Coloração hematoxilina eosina.

Figura 43: Córtex Renal.



Legenda: A- Córtex renal de animal tratado com água. Túbulos proximais (TP), túbulos distais (TD) e corpúsculo renal (CR), (400X); B- córtex renal de animal tratado com cisplatina. Eosinofilia e descamação de células tubulares que se aglomeraram no interior dos túbulos (CT), algumas mostrando núcleos (seta), (400X). Coloração hematoxilina eosina.

Figura 44: Necrose tumoral.

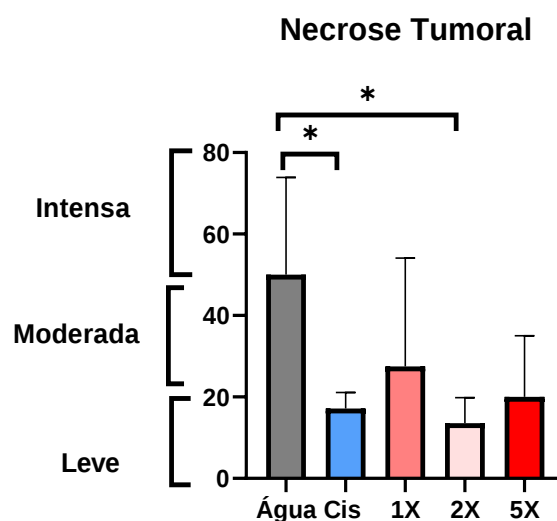
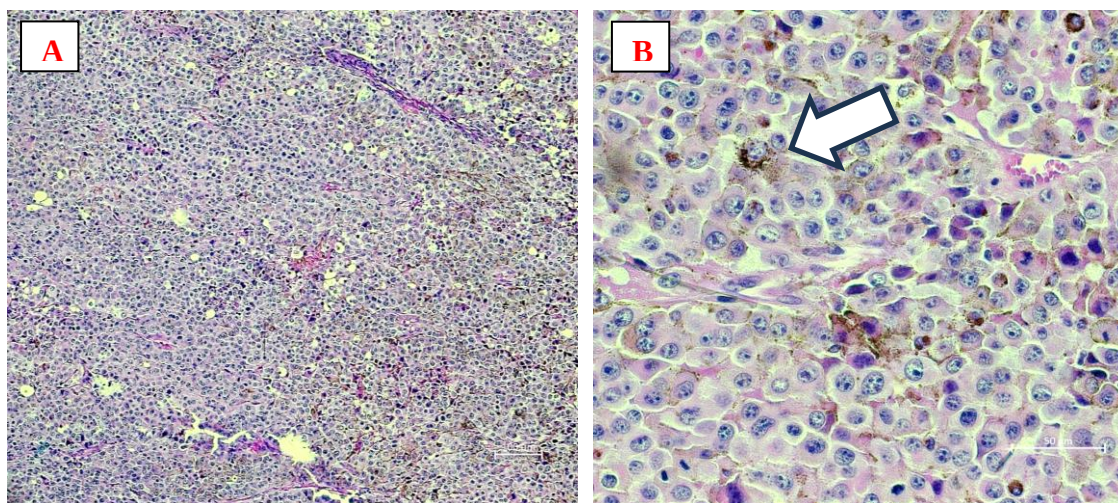


Figura 44: Necrose tumoral entre os grupos. Grupos: controle negativo- tratados com água, controle positivo- tratados com cisplatina a 4mg/kg, 1X- tratados com a dose usual do chá de ayahuasca; 2X- tratados com duas vezes a dose usual do chá de ayahuasca; 5X- tratados com cinco vezes a dose usual do chá de ayahuasca. O asterisco indica diferença estatisticamente significativa, onde $*P \leq 0,05$. Todos os dados foram apresentados como média $\pm$ desvio padrão. A estatística foi feita no *GraphPad Prism 9.0* com os testes de *Kruskal-Wallis* seguido do teste *Dunn's*.

Houve diminuição de necrose tumoral em todos os grupos de tratamento quando comparado com o grupo controle negativo. Esse resultado foi significativo quando comparamos o grupo tratado com água, tratado com cisplatina e tratado com 2X a dose do chá de ayahuasca. O patologista trabalhou com escala: leve, moderada e intensa que pode ser convertido a uma provável porcentagem de necrose tumoral vista em lâmina.

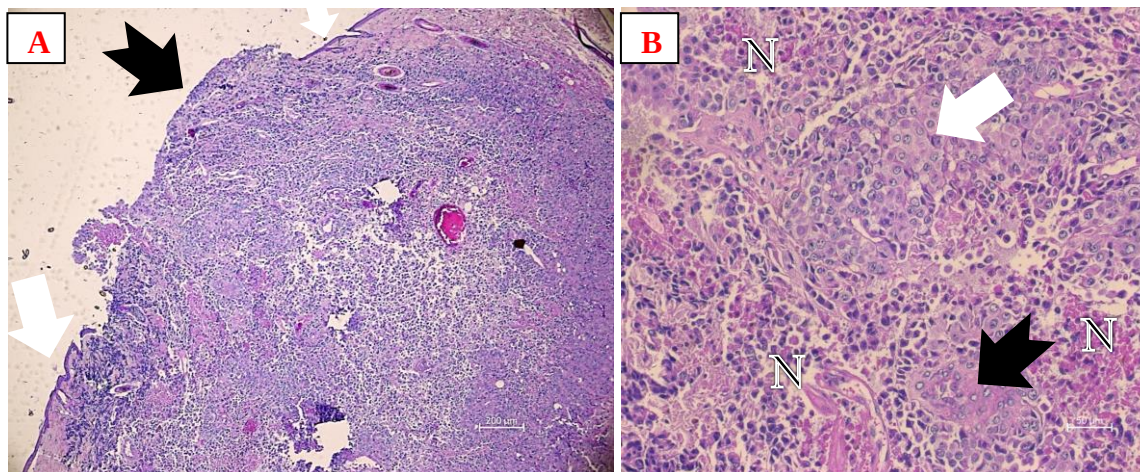
As figuras 45, 46, 47 ilustram os achados histológicos nas lâminas de tumores.

Figura 45: Vista panorâmica de melanoma maligno.



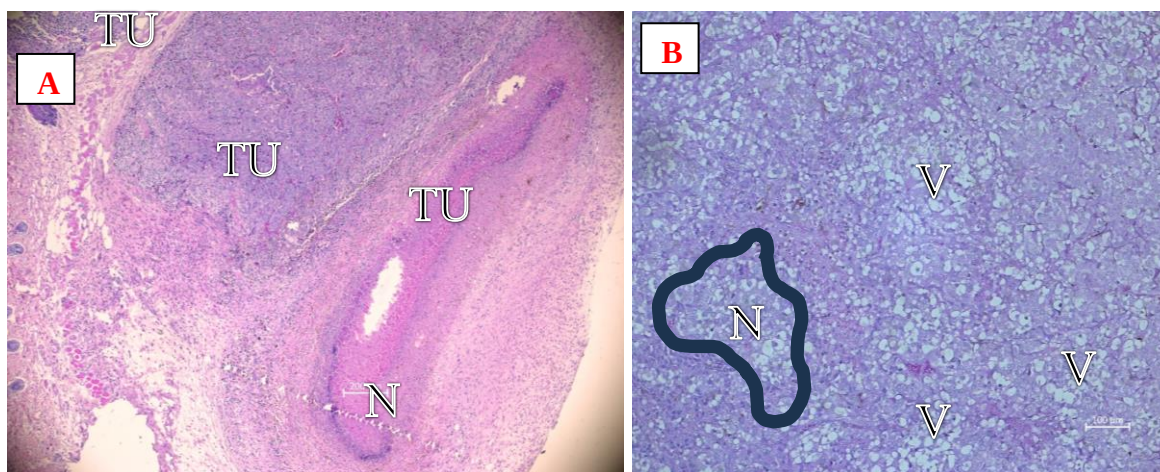
Legenda: A- área sólida de melanoma em vista panorâmica (100X); B- ampliação da imagem com indicação de melanina intracitoplasmática e núcleos com presença de 1 a 3 nucléolos (400X). Lâmina de tumor de animal tratado com ayahuasca na maior dose. Coloração hematoxilina eosina.

Figura 46: Melanoma ulcerando a pele.



Legenda: A- melanoma ulcerando a pele (seta preta), pele íntegra (seta branca);(50X); B- ampliação da imagem com indicação da área ulcerada com células melanocíticas com baixa expressão de melatonina (seta branca), restos de epiderme (seta preta). Áreas de necrose focal (N). Lâmina de tumor de animal tratado com 2X a dose usual de ayahuasca; (200X). Coloração hematoxilina eosina.

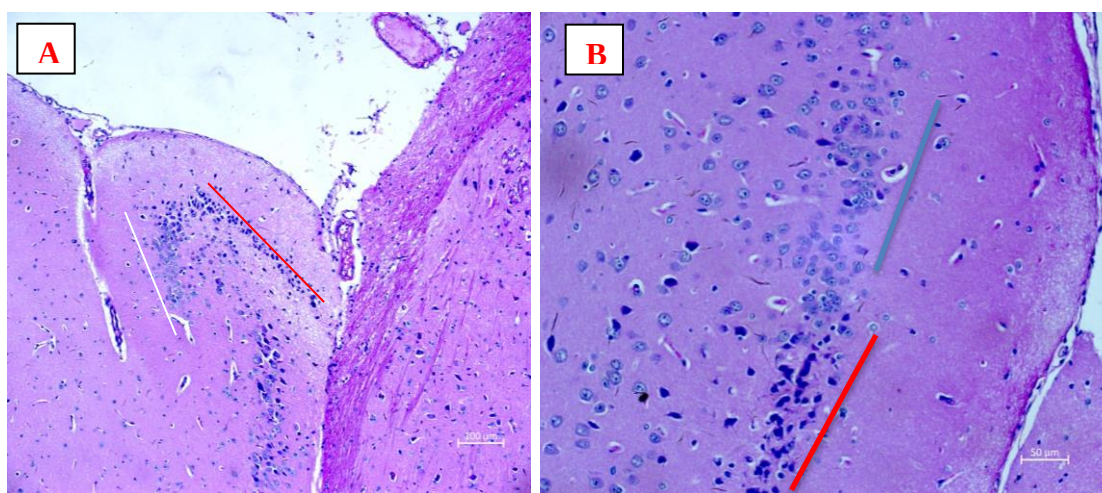
Figura 47: Nódulos de melanoma necrótico.



Legenda: A- Nódulos de melanoma necrótico no subcutâneo (TU), um deles completamente necrótico (N);(50X); B- Melanoma com áreas de degeneração vacuolar (V) e focos de necrose (N). Lâmina de tumor de animal tratado com 5X a dose usual de ayahuasca; (100X). Coloração hematoxilina eosina.

Um achado que merece destaque foi à morte neuronal observada nos cortes cerebrais (figura 48). O patologista trabalhou com uma escala: leve, moderada e intensa. 4 animais tratados com água e 2 animais sem tumor e sem tratamento apresentaram leve morte neuronal. Já os animais tratados com o chá de ayahuasca apresentaram intensa morte neuronal, 3 animais do grupo 1X e 2X e 4 animais do grupo 5X e cisplatina.

Figura 48: Vista panorâmica do hipocampo.



Legenda: A- Vista panorâmica do hipocampo mostrando faixa de neurônios necróticos (linha vermelha) e área normal (linha branca); (100X); B- Ampliação da imagem; (200X). Lâmina de cérebro animal tratado com 5X a dose usual de ayahuasca. Coloração hematoxilina eosina.

8- DISCUSSÃO

A ayahuasca, decocção milenar indígena é usada por xamãs e integrantes de tribos amazônicas e mais recentemente em rituais religiosos sincréticos no Brasil e mundo afora. Seus principais componentes ativos, DMT e β -carbolicinas têm efeitos terapêuticos já descritos como, por exemplo, RODRIGUES *et al.*, 2019; NIITSU *et al.*, 2012; BERROUGUI *et al.*, 2006; CAO *et al.*, 2004, e recentemente em experimentos pré-clínicos e clínicos mostram uma ação promissora para o tratamento da depressão (PICKTAYLOR *et al.*, 2015; SANCHES *et al.*, 2016; GALVÃO-COELHO *et al.*, 2020) e no tratamento do abuso e dependência do álcool e substâncias ilícitas (DOERING-SILVEIRA *et al.*, 2005; THOMAS *et al.*, 2013; OLIVEIRA-LIMA *et al.*, 2015; NOLLI *et al.*, 2020).

A popularização da ayahuasca pelas religiões ayahuasqueiras, pelo seu uso recreativo, e pela facilitação de acesso a cerimônias e rituais, permitiu que pessoas com diversas enfermidades, principalmente algumas de difícil controle ou aquelas cuja cura é inatingível, buscassem na cocção uma possível melhora/cura para seus problemas de saúde. Dentre muitas enfermidades, o câncer é uma doença de difícil tratamento e remissão reduzida. Neste sentido, nas últimas décadas vemos um crescente número de relatos que associam a melhora clínica e até a cura de pacientes com diversos tipos de cânceres que optaram por se tratar de maneira alternativa e holística com a ayahuasca (SCHMID *et al.*, 2010; SCHENBERG, 2013). Não é incomum ver a remissão temporária de pacientes que utilizaram terapias alternativas devido ao efeito placebo, ou

mesmo ao simples fato de se “crer” na remissão. Assim este trabalho visou separar, o possível efeito biológico terapêutico da ayahuasca do efeito de cura espiritual (efeito placebo).

Foi utilizado uma alíquota da infusão que nos foi cedida pelo grupo União do Vegetal, com sede em Brasília-DF, em maio de 2011. O material que permaneceu armazenado até sua utilização foi re-quantificado para verificar a integralidade dos compostos ativos do chá. Em PIC-TAYLOR *et al.*, 2015 a quantificação do chá gerou os seguintes dados: DMT 0,146 mg/mL, harmina 1,56 mg/mL e harmalina 0,12 mg/mL; a quantificação atual mostrou que nas condições de armazenamento usadas, existe estabilidade do DMT 0,146 mg/mL e da harmalina 0,129 mg/mL; mas houve degradação na ordem de 50% harmina 0,754 mg/mL.

O chá de ayahuasca foi então usado, na primeira etapa do estudo, para investigar seu efeito potencial *in vitro*, em células de modelo tumoral murinas (B16F10), humano (U87MG e MCF7) e controle não tumoral murino (NIH3T3). Nos experimentos *in vitro*, a cisplatina foi usada como controle positivo e o meio de cultura como controle negativo.

A cisplatina é um fármaco mundialmente utilizado para intervenções quimioterápicas, devido a seu mecanismo antitumoral eficiente para vários tipos de células cancerosas (GENTILIN, 2023). Após a conclusão dos experimentos, a ação da cisplatina, nosso controle positivo, foi confirmada como quimioterápico eficiente nas diferentes linhagens celulares em tratamentos *in vitro* e *in vivo*, embora com efeitos tóxicos.

A cisplatina é considerada um agente alquilante, embora sua ação não envolva diretamente a alquilação do DNA (FLOREA & BUSSELBERG, 2011). Ela entra nas células tumorais por difusão, através de transportadores específicos, dentro da célula sofre hidrólise, substitui seus ligantes, cloro por água, o que a ativa. Esta forma ativa da cisplatina forma ligações covalentes com bases de DNA (FLOREA & BUSSELBERG, 2011).

A ligação da cisplatina ao DNA causa alterações estruturais significativas, como curvatura e desenrolamento da hélice dupla (WANG & LIPPARD, 2005), esses danos bloqueiam a replicação e a transcrição do DNA, interferindo no ciclo celular (KELLAND, 2007). Nossos resultados estão de acordo com esse mecanismo de morte, já que a cisplatina nos ensaios de viabilidade celular não se mostrou eficiente, tendo em vista que a membrana celular parece permanecer intacta, já nos resultados de

fragmentação do DNA, a cisplatina provou comprometimento ao DNA. No ensaio de fases do ciclo celular, a cisplatina bloqueia o ciclo celular em S, confirmando a fragmentação do DNA, já que não há possibilidade de duplicação.

Os resultados encontrados dos efeitos do chá de ayahuasca *in vitro* foram promissores. Diferentemente da cisplatina, o mecanismo pelo qual o chá de ayahuasca promove a diminuição da viabilidade celular é o comprometimento na integridade da membrana celular em todas as linhagens celulares testadas com tendência de diminuição de viabilidade com aumento da dose de tratamento com chá de ayahuasca. A fragmentação do DNA também foi aumentada em todas as linhagens celulares, de maneira acentuada nas linhagens tumorais U87MG e MCF7.

A análise de citometria de fluxo mostrou os efeitos apoptóticos da ayahuasca em células B16F10. No grupo controle negativo, a maioria das células estavam nas fases G1 e S, devido ao alto estado proliferativo da linhagem celular. Após a exposição ao IC₅₀ do chá por 24 horas, observamos um aumento acentuado na porcentagem de células bloqueadas na fase G2 do ciclo celular, acompanhado por uma diminuição na porcentagem de células na fase G1, indicando uma parada do ciclo celular na fase G2. Esses resultados estão de acordo com a literatura, já que, estudos mostram as β -carbolinas também promovem paradas em G2 (DI GIORGIO *et al.*, 2004; HAMSA & KUTTAN, 2011, IKEDA *et al.*, 2012; HAN *et al.*, 2012). O bloqueio na fase G2 do ciclo celular é irreversível, e estas células inevitavelmente caminharão para a morte celular. Este bloqueio nos remete a possibilidade de danos em quantidades significativas no DNA, como mostra os experimentos de fragmentação do DNA.

Estudos adicionais, com o chá de ayahuasca, precisam ser feitos, com a intenção de melhor investigar os motivos dessa parada do ciclo celular em G2. Além do comprometimento da integridade do DNA, o bloqueio em G2 pode ocorrer devido ao comprometimento de processos essenciais para a progressão do ciclo celular, como por exemplo, a integridade do fuso mitótico ou desregulação da expressão de genes envolvidos no processo de divisão celular que não foram investigados neste trabalho. Com relação à regulação de genes do ciclo celular, HAMSA & KUTTAN (2011) através de análise RT-PCR mostrou que a harmina induziu a apoptose em células de melanoma B16F10 ao regular positivamente Bax e ativar Caspase-3, 9 e p53 e regular negativamente Bcl-2. HAN *et al.* (2012) sugerem harminas como inibidores de PLK-1. De fato, diante desses resultados, existe uma potencial atividade anti-câncer das β -carbolinas e consequentemente da cocção que as contém, que devem continuar sendo

investigadas com a intenção de obter resultados mais específicos em relação às vias de atuação no ciclo celular acrescentando a doses não tóxicas para garantir segurança na terapêutica do câncer.

Baseado nos resultados do ensaio com Anexina V- FITC por citometria de fluxo, a morte celular induzida pela cisplatina e pelo chá de ayahuasca variou entre apoptose precoce, tardia e necrose. Provavelmente o tempo de exposição (24 horas) a dose administrada e o tipo celular (GALLUZI *et al.*, 2012) foram determinantes para esse resultado. A linhagem tumoral MCF7 se comportou de maneira oposta as demais linhagens experimentais no que diz respeito à morte celular por necrose, já que houve redução significativa no grupo cisplatina e IC₅₀ quando comparado ao grupo controle. Sendo assim, confirmando que, linhagens celulares diferentes apresentam respostas distintas dependendo de sua capacidade de reparar o DNA ou ativar as vias de apoptose (WANG & LIPPARD, 2005).

Tomando como base os resultados dos experimentos *in vitro* com ayahuasca em linhagens de câncer murino B16F10, procedeu-se a investigação do efeito da antitumorigênico da ayahuasca em camundongos C57BL/6 que tiveram tumor induzido e foram subsequentemente tratados com as diferentes doses de ayahuasca por gavagem, durante 10 dias iniciando no 7º dia após a inoculação do tumor. A cisplatina também foi utilizada como controle positivo, a água atuou como controle negativo e foi incluído o grupo sem tumor e sem tratamento (controle saudável) permitindo avaliar se os efeitos observados (em resposta ao tumor ou a um tratamento) são realmente causados pela presença do câncer e não por outros fatores.

O tratamento do melanoma *in vivo* com a cisplatina na dose de 4 mg/kg, em dias alternados, se mostrou eficiente, ainda que potencialmente tóxico, já que um animal foi a óbito. Dentre os principais efeitos adversos descritos em pacientes oncológicos que realizam o uso da cisplatina, destaca-se a perda de peso significativa após o período de tratamento com este quimioterápico (BERG *et al.*, 2024). Como constatado neste presente estudo, o grupo animal que foi tratado como controle positivo apresentou redução significativa do peso entre o 13º e 19º dia de experimento, comprovando os achados descritos na literatura. Os animais tratados com cisplatina apresentaram um volume, peso e necrose tumoral menores, já que é um quimioterápico conhecido e, portanto, esse resultado era esperado (DIAS *et al.*, 2018).

O tratamento dos animais portadores de melanoma com ayahuasca em altas doses também se mostrou tóxico levando todos os animais tratados com 10X e 15X a óbito o

que nos fez descontinuar essas doses. Possivelmente, a dose de 5X seja a dose máxima que os animais portadores de melanoma suportam por 10 dias de tratamento, isso porque, todos os animais deste grupo apresentaram alterações clínicas consideráveis (tremores, piloereção, diarreia, ranger dos dentes e vocalização) perda de peso que culminou com óbito de 1 animal com episódio convulsivo, característico de síndrome serotoninérgica.

Provavelmente alterações no sistema imunológico durante o processo de desenvolvimento do câncer (SPRANGER & GAJEWSKI, 2018) concomitantemente ao tratamento com o chá de ayahuasca sejam suficientes para sobrecarga do organismo o que culmina com a morte animal, que também aconteceu com um animal do grupo de 2X. No caso do melanoma existe uma ativação inicial do sistema imune, no processo de formação do tumor, porém, à medida que o melanoma progride ele desenvolve estratégias para escapar do ataque imune como, por exemplo, a inibição de células T e a liberação de citocinas imunossupressoras que enfraquecem a resposta inflamatória (SPRANGER & GAJEWSKI, 2018). MOTTA *et al.* (2018) realizaram estudos com ratas *wistar* prenhes, estado que também altera o sistema imune (MOR *et al.*, 2018; RACICOT & MOR, 2017), e animais tratados com ayahuasca nas doses de 4X e 8X foram a óbito.

Nas doses de 1X, 2X e 5X os tratamentos com ayahuasca revelaram uma redução significativa do peso animal, em parte está associada ao tratamento com a ayahuasca comprovada em outros estudos (OLIVEIRA *et al.*, 2010; MOTTA *et al.*, 2018; SANTOS *et al.*, 2017; NOLLI *et al.*, 2020) e também relacionado à doença, já que, a perda de peso em animais com câncer é conhecida (CARDOSO, 2018; LI *et al.*, 2024).

Em relação ao tumor os animais tratados com ayahuasca nas doses de 1X e 5X apresentaram uma tendência de diminuição de volume tumoral quando comparadas com o controle negativo, porém sem significância, esse resultado se revela interessante já que seria uma função importante na terapêutica. Curiosamente os animais tratados com 2X a dose, apresentaram um volume tumoral maior e um animal apresentou um tumor que se espalhou por toda a lateral do corpo, essa dose merece atenção, já que, é possível de ser atingida nos rituais religiosos.

Os resultados do hemograma animal mostram uma redução dos níveis de hemácias, hemoglobina e hematócrito dos grupos de tratamento (1X e 2X), controle positivo e negativo quando comparados com o grupo sem tumor e sem tratamento, isso é explicado pela possível presença de anemia crônica da doença (WEISS *et al.*, 2005) ou

anemia inflamatória ou anemia associada a insuficiência medular (CARVAJAL *et al.*, 2017). Os resultados do leucograma revelaram leucopenia nos grupos controle positivo, 1X e 2X que é explicado pela imunossupressão causado pelo tumor (GABRILOVICH *et al.*, 2012) e leucocitose nos grupos controle negativo e tratados com a maior dose do chá de ayahuasca, que é explicado pela ativação imunológica ou inflamação crônica da doença (SUZUKI *et al.*, 2015). A trombocitose (aumento das plaquetas) foi encontrado nos grupos de tratamento 1X e 5X, controle negativo e positivo, o que favorece a formação de agregados tumor-plaquetas, auxiliando na proteção das células tumorais contra o sistema imune e promovendo a formação de metástases (LABELLE *et al.*, 2011). A exceção desse resultado foi o grupo 2X que apresentou trombocitopenia (redução das plaquetas) explicado pela presença excessivo de plaquetas no microambiente tumoral (SCHUMACHER *et al.*, 2013).

Camundongos portadores de melanoma apresentam alterações bioquímicas características, refletindo tanto o impacto do tumor no metabolismo quanto à resposta do organismo ao câncer. As alterações mais comuns estão relacionadas a marcadores inflamatórios, função hepática, estresse oxidativo, metabolismo lipídico e energético. Nesse sentido nossos resultados confirmam o aumento de ALT em todos os grupos de tratamento caracterizado por alterações na função hepática associado ao metabolismo tumoral e à toxicidade sistêmica (MCMILLAN, 2013). A diminuição em todos os grupos de tratamento dos níveis de AST pode estar relacionado ao efeito sistêmico de citocinas inflamatórias (interleucinas e fator de necrose tumoral) que podem interferir com o metabolismo hepático e a produção de enzimas hepáticas, o que corrobora os achado de HAMSA & KUTTAN em 2010 em que esses níveis estão diminuídos em animais tratados com harminas.

O câncer pode levar a alterações no metabolismo do nitrogênio e as citocinas inflamatórias liberadas pelo tumor também podem comprometer os rins (NAKAMURA *et al.*, 2009) o que seria uma explicação para os animais tratados com o chá de ayahuasca apresentaram níveis de ureia diminuídos e os animais controles aumentados.

Os achados histológicos mostraram-se reveladores em relação à indução de necrose tumoral com os grupos tratados com ayahuasca principalmente o grupo 2X que se mostrou mais eficiente do que o controle positivo, sendo assim, ainda que seja necessário estudos complementares existe um potencial terapêutico da ayahuasca no melanoma já que a necrose do tumor está relacionado a benefícios diretos e específicos nos tumores. Os achados histológicos de morte neural pelos grupos tratados com

ayahuasca também merecem ser discutidos, ainda que corroborados por PIC-TAYLOR *et al.* (2015) são necessários estudos complementares com o objetivo de desvendar as causas e/ou consequências desse resultado visto que pode ser um efeito colateral real do uso do chá.

Até onde sabemos, este é o primeiro estudo a investigar o potencial antitumorigênico da ayahuasca em modelos *in vitro* (murino e humano) e *in vivo* (modelo murino com tumor induzido). Os resultados permitem identificar alterações promovidas pelo chá, destacando sua ação na regulação de mecanismos biológicos que merecem ser mais explorados para uma compreensão sólida sobre a possível aplicação terapêutica do chá ou de seus componentes para esse fim. Conhecendo os efeitos antidepressivos promovidos pelo chá (FÁBREGAS *et al.*, 2010; OSÓRIO *et al.* 2015; SANCHES *et al.* 2016), além de suas propriedades que induzem estados alterados de consciência e experiências subjetivas intensas e únicas, é possível compreender como a ayahuasca contribui para a melhora na qualidade de vida relatada por pacientes que optaram por esse tratamento alternativo, mesmo quando não houve remissão completa.

Fica claro o enorme desafio para se pesquisar a ação os psicoativos em ensaios clínicos randomizados já que o grupo placebo não experimenta o estado alterado de consciência, descritos previamente e tornando evidente para os participantes e pesquisadores quem recebeu o chá ativo ou o placebo.

Por fim, estudos complementares com estratégias metodológicas robustas precisam ser desenvolvidos para reduzir o viés e distinguir os efeitos farmacológicos reais do chá de ayahuasca do efeito placebo.

9- CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos por esse trabalho é possível inferir as seguintes conclusões:

- ❖ O IC₅₀ do chá de ayahuasca promove comprometimento na integridade da membrana celular em todas as linhagens celulares testadas;
- ❖ O IC₅₀ do chá de ayahuasca promove fragmentação do DNA em todas as linhagens celulares testadas;
- ❖ O IC₅₀ do chá de ayahuasca na linhagem tumoral B16F10 promove parada do ciclo celular em G2;
- ❖ A morte celular induzida pela ayahuasca nas diferentes linhagens experimentais variou entre apoptose precoce, tardia e necrose;

- ❖ O tratamento de camundongos C57BL6 portadores de melanoma nas doses de 10X e 15X se mostrou tóxico;
- ❖ Possivelmente a maior dose de tratamento de camundongos C57BL6 portadores de melanoma com o chá de ayahuasca é de 5X a dose usual;
- ❖ Existe redução de peso dos camundongos C57BL6 portadores de melanoma tratados com ayahuasca;
- ❖ Existe redução de volume tumoral e indução de necrose tumoral nos camundongos C57BL6 portadores de melanoma quando são tratados com ayahuasca.

A ayahuasca é apontada como um instrumento promissor para o tratamento de diversas enfermidades, incluindo o câncer, e dependências químicas. Para melhor compreender os efeitos biológicos da ayahuasca são necessárias pesquisas científicas futuras em modelos biológicos animais e clínicos, com grupos controles, e número de amostra estatisticamente viável para minimizar fatores de confundimento presentes no uso ritualístico do chá de ayahuasca.

10- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMAD, I.; FAKHRI, S.; KHAN, H.; Jeandet, P.; ASCHNER, M.; YU, Z.L. Targeting cell cycle by β -carboline alkaloids *in vitro*: Novel therapeutic prospects for the treatment of cancer. *Chemico-biological-interactions*, 2020.
- ALMEIDA, C.A.F.; PEREIRA-JUNIOR, A.A.; RANGEL, J.G.; PEREIRA, B.P.; COSTA, K.C.M.; BRUNO, V.; SILVEIRA, G.O.; CERON, C.S.; YONAMINE, M.; CAMARINI, R.; GARCIA, R.C.T.; MARCOURAKIS, T.; TORRES, L.H. Ayahuasca, a psychedelic beverage, modulates neuroplasticity induced by ethanol in mice. *Behavioural brain research*, 2022.
- ALOMAR, M.L.; RASSE-SURIANI, F.A.O.; GANUZA, A.; CÓCERES, V.M.; CABRERIZO, F.M.; ANGEL, S.O. In vitro evaluation of β -carboline alkaloids as potential anti-Toxoplasma agentes. *BioMed central research*, 2013.
- ALVARENGA, T.A.; POLESEL, D.N.; MATOS, G.; GARCIA, V.A.; COSTA, J.L.; TUFIK, S.; ANDERSEN, M.L. Can ayahuasca and sleep loss change sexual performance in male rats? *Behavioural processes*, 2014.
- AMERICAN CANCER SOCIETY. Cancer facts & figures 2017. Disponível em: <<https://www.cancer.org/content/dam/cancer-org/research/cancer-facts-and-statistics/>>. Acesso em: 18 de dezembro de 2021.
- ANDREWS, P.W.; KOMSTEIN, S.G.; HALBERSTADT, L.J.; GARDNER, C.O.; NEALE, M.C. Blue again: perturbacional effects of antidepressants suggest monoaminergic homeostasis in major depression. *Frontiers in psychology*, 2011.
- ANTUNES, L.M.; DARIN, J.D.; BIANCHI, M.D.; Protective effects of vitamin c against cisplatin induced neurophrotoxicity and lipid peroxidation in adult rats: a dose-dependent study. *Pharmacological research*, 2000.
- ARSHAD, N.; EGLSEER-ZITTERL, K.; HASNAIN, S.; HESS, M. Effect of *Peganum harmala* or its β -Carboline Alkaloids on Certain Antibiotic Resistant Strains of Bacteria and Protozoa from Poultry. *Phytotherapy research*, 2008.
- BARBANOJ, M.J.; RIBA, J.; CLOS, S.; GIMÉNEZ, S.; GRASA, E.; ROMERO, S. Daytime Ayahuasca administration modulates REM and slow-wave sleep in healthy volunteers. *Psychopharmacology*, 2008.
- BARBANOJ, M.J.; FÁBREGAS, J.M.; RIBA, J. Personality, psychopathology, life attitudes and neuropsychological performance among ritual users of ayahuasca: a longitudinal study. *Plos one*, 2012.
- BARBOSA, P.C.R.; GIGLIO, J.S.; DALGALARRONDO, P. Altered states of consciousness and short-term psychological after-effects induced by the first time ritual use of ayahuasca in an urban context in Brazil. *Journal psychoactive drugs*, 2005.
- BARBOSA, P.C.R.; TÓFOLI, L.F.; BOGENSCHUTZ, M.P.; HOY, R.; BERRO, L.F.; MARINHO, E.A.V.; ARECO, K.N.; WINKELMAN, M.J. Assessment of alcohol

- and tobacco use disorders among religious users of ayahuasca. *Frontiers in psychiatry*, 2018.
- BARKER, S. A.; MCILHENNY, E. H.; STRASSMAN, R. A critical review of reports of endogenous psychedelic N, N-dimethyltryptamines in humans: 1955–2010. *Drug testing and analysis*, 2011.
- BELOUIN, S.J.; AVERILL, L.A.; HENNINGFIELD, J.E.; XENAKIS, S.N.; DONATO, I.; GROB, C.S.; BERGER, A.; MAGAR, V.; DANFORTH, A.L.; ANDERSON, B.T.N. Policy considerations that support equitable access to responsible, accountable, safe, and ethical uses of psychedelic medicines. *Neuropharmacology*, 2022.
- BERG, M.; HANSSON, C.; SILANDER, E.; BOVE, M.; JOHANSSON, L.; CANGE, H.H.; BOSAEUS, I.; NYMAN, J.; HAMMERLID, E. A randomized study comparing the nutritional effects of radiotherapy with cetuximab versus cisplatin in patients with advanced head and neck cancer. *Head & neck*, 2024.
- BERGER, M.; GRAY, J. A.; ROTH, B. L. *The expanded biology of serotonin. Annual Review of Medicine*, 2009.
- BERLOWITZ, I.; WALT, H.; GHASARIAN, C.; MENDIVE, F.; MARTIN-SOELCH, C. Short-term treatment effects of a substance use disorder therapy involving traditional Amazonian medicine. *Journal of psychoactive drugs*, 2019.
- BERROUGUI, H.; MARTIN-CORDERO, C.; KHALIL, A.; HMAMOUCHE, M.; ETTAIB, A.; MARHUENDA, E.; HERRERA, M.D. Vasorelaxant effects of harmine and harmaline extracted from *Peganum harmala* L. seed's in isolated rat aorta. *Pharmacological research*, 2006.
- BIASI, A.R.; VILLENA-VARGAS, J.; ADUSUMILLI, P.S. Cisplatin induced antitumor immunomodulation: a review of preclinical and clinical evidence. *Clinical cancer research*, 2015.
- BLANCO, M.L.; NETO, A.C. O fator nuclear kappa β : uma nova perspectiva para o estudo de drogas inflamatórias. *Revista de ciências médicas*, Campinas, 2003.
- BOUSO, J.C.; GONZÁLEZ, D.; FONDEVILA, S.; CUTCHET, M.; FERNÁNDEZ, X.; BARBOSA, P.C.R.; ALCÁZAR-CÓRCOLES, M.A.; ARAÚJO, W.S.;
- BRAGA, K.M.S.; PIMENTA, V.S.C.; RODRIGUES, F.A.; SANTOS, T.P.; ARAÚJO, E.G. Citometria de fluxo: histórico, princípios básicos e aplicações em pesquisa. *Enciclopédia biosfera*, 2016.
- BRAY, F.; FERLAY, J.; SOERJOMATARAM, I.; SIEGEL, R. L.; TORRE, L.A.; JEMAL, A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *Cancer Journal for Clinicians*, 2018.

- BRUCE, N.C. Alkaloids. In: Biotechnology, Bio-transformations I. Rehm, H.J. and Reed, G., United Kingdom, 2001.
- BUMPUS, F.M. & PAGE, I.H. Serotonin and its methylated derivatives in human urine. *Journal of biological chemistry*, 1955.
- BUSSMANN, R.W.; MALCA-GARCÍA, G.; GLENN, A.; SHARON, D.; CHAIT, G.; DÍAZ, D.; POURMAND, K.; JONAT, B.; SOMOGY, S.; GUARDADO, G.; AGUIRRE, C.; CHAN, R.; MEYER, K.; KUHLMAN, A.; TOWNESMITH, A.; EFFIO-CARBAJAL, J.; FRÍAS-FERNANDEZ, F.; BENITO, M. Minimum inhibitory concentrations of medicinal plants used in Northern Peru as antibacterial remedies. *Journal ethnopharmacol*, 2010.
- CAI, Y. & XING, J. *Biosynthesis and regulation of β -carboline alkaloids in plants*. *Phytochemistry*, 1998.
- CAO, R.; CHEN, Q.; HOU, X.; CHEN, H.; GUAN, H.; MA, Y.; Peng, W.; Xu, A. Synthesis, acute toxicities, and antitumor effects of novel 9-substituted beta-carboline derivatives. *Bioorganic & medical chemistry journal*, 2004.
- CALLAWAY, J.C.; MCKENNA, D.J.; GROB, C.S.; BRITO, G.S.; RAYMON, L.P.; POLAND, R.E.; ANDRADE, E. N.; ANDRADE, E. O.; MASH, D.C. Pharmacokinetics of hoasca alkaloids in healthy humans. *Journal of Ethnopharmacology*, 1999.
- CALLAWAY, J. C. & BRITO, G. S. *Beta-carboline alkaloids in South American hallucinogenic plants*. *Journal of Psychoactive Drugs*, 2005.
- CALLAWAY, J. C. *Various alkaloid profiles in decoctions of Banisteriopsis caapi*. *Journal of Psychoactive Drugs*, 2005.
- CAMARGO, M.G.P.S.; LIMA, T.A.; BRIGIDO, M.G.C.; SENA, J.F.R.; SAMPAIO, J.M.C.; ALENCAR, M.C.N.; ALMEIDA, M.C.B.; SILVA, E.M.; MONTE, A.R.C.R.; SILVA, T.H.S.; BRÍGIDO, E.C. Perfil epidemiológico do câncer de pele, no Brasil, de 2019 a 2023. *Periódicos Brasil*, pesquisa científica, 2024.
- CARHART-HARRIS, R. L. & GOODWIN, G. M. *The Therapeutic Potential of Psychedelic Drugs: Past, Present, and Future*. *Neuropsychopharmacology*, 2017.
- CARVAJAL, R.D.; SCHWARTZ, G.K.; TEZEL, T.; MARR, B.; FRANCIS, J.H.; NATHAN, P.D. Metastatic disease from uveal melanoma: treatment options and future prospects. *The British journal of ophthalmology*, 2017.
- CARVALHO, A.T.; RIBEIRO, G. A.; NOGUEIRA, R.F. Citometria de fluxo, 2010.
- CASTRO-NETO, E.F.; CUNHA, R.H.; SILVEIRA, D.X.; YONAMINE, M.; GOUVEIA, T.L.; CAVALHEIRO, E.A.; AMADO, D.; NAFFAH-MAZZACORATTI, M.G. Changes in aminoacidergic and monoaminergic neurotransmission in the hippocampus and amygdala of rats after ayahuasca ingestion. *World journal of biological chemistry*, 2013.

- CHANG, K.F.; LAI, H.C.; LEE, S.C.; HUANG, X.F.; HUANG, Y.C.; CHOU, T.E.; HSIAO, C.Y.; TSAI, N.M. The effects of patchouli alcohol and combination with cisplatin on proliferation, apoptosis and migration in B16F10 melanoma cells. *Journal of cellular and molecular medicine*, 2023.
- CHEN, QI; CHAO, R.; CHEN, H.; HOU, X.; YAN, H.; ZHOU, S.; Wenlie PENG, W.; Xu, A. Antitumor and neurotoxic effects of novel harmine derivatives and structure-activity relationship analysis. *International journal of cancer*, 2005.
- CHEN, X.; GUO, L.; MA, Q.; CHEN, W.; FAN, W.; ZHANG, J. Design, synthesis, and biological evaluation of novel N-acylhydrazone bond linked heterobivalent β -carboline as potential anticancer agents. *Molecules*, 2019.
- Convention on Psychotropic Substances, entry into force August (1971) 16, 1976, 1019 U.N.T.S. 175.
- CORDELL, G. A. *Biodiversity and Drug Discovery – A Symbiotic Relationship*. Phytochemistry, 2000.
- CORREA-NETTO, N.F.; MASUKAWA, M.Y.; NISHIDE, F.; GALFANO, G.S.; TAMURA, F.; SHIMIZO, M.K.; MARCATO, M.P.; SANTOS-JUNIOR, J.G.; LINARDI, A. An ontogenic study of the behavioral effects of chronic intermittent exposure to ayahuasca in mice. *Brazilian journal of medical and biological research*, 2017.
- COURTWRIGHT, D. T. *Forces of Habit: Drugs and the Making of the Modern World*. Harvard University Press. 2001.
- COWEN, P. J. & SHERWOOD, A. C. *The role of serotonin in cognitive function and behavior*. *Current Opinion in Psychiatry*, 2013.
- CRUZ, J.I.; NAPPO, S.A. Is ayahuasca an option for the treatment of crack cocaine dependence? *Journal of psychoactive drugs*, 2018.
- CUI-ZAN, C.; HE-FENG, Z.; NING-NING, Y.; MING-YUE, W.; MING-YUEN, L.S.; JIAO-YAN, R.; HUAN-XING, S.; JIN-JIAN, L.; XIU-PING, C.; MIN, L.; JIE-QIONG, T.; JIA-HONG, L. Natural alkaloid harmine promotes degradation of alpha-synuclein via PKA-mediated ubiquitin-proteasome system activation. *Phytomedicine*, 2019.
- DA SILVEIRA, D.X.; GROB, C. S.; RIOS, M.D.; LOPEZ, E.; ALONSO, L.K.; TACLA, C.; DOERING-SILVEIRA, E. Ayahuasca in adolescence: a preliminar psychiatric assessment. *Journal psychoactive drugs*, 2005.
- DAKIC, V.; MACIEL, R.M.; DRUMMOND, H.; NASCIMENTO, J.M.; TRINDADE, P.; REHEN, S.K. Harmine stimulates proliferation of human neural progenitors. *Journal PeerJ*, 2016.

- DE SOUZA, P.A. Revisão: Alcaloides e o chá de Ayahuasca: uma correlação dos “estados alterados da consciência” induzido por alucinógenos. *Revista brasileira de plantas medicinais*, 2011.
- DESMARCHELIER, C.; GURNI, A.; CICCIA, G.; GUILIETTI, A.M. Ritual and medicinal plants of the Ese'ejas of the Amazonian rainforest (Madre de Dios, Perú). *Journal ethnopharmacology*, 1996.
- DI GIORGIO, C.; DELMAS, F.; OLLIVIER, E.; ELIAS, R.; BALANSARD, G.; TIMON-DAVID, P. *In vitro* activity of the beta-carboline alkaloids harmine, harmine, and harmaline toward parasites of the species *Leishmania Infantum*. *Experimental parasitology*, 2004.
- DIAS, M.; NASCIMENTO, T.S.S.; SANTOS, I.A.; LIMA, E.R. Avaliação histopatológica dos órgãos de camundongos com carcinoma de ehrlich tratados com cisplatina, acupuntura e euphorbia tirucalli. *Cadernos de naturologia e terapias complementares*, 2018.
- DOERING-SILVEIRA, E.; GROB, C.S.; RIOS, M.D.; LOPEZ, H.; ALONSO, L.B.; TACLA, C.; SILVEIRA, D.X. Report on psychoactive drug use among adolescents using ayahuasca within a religious context. *Journal psychoactive drugs*, 2005.
- DOMÍNGUEZ-CLAVÉ, E.; SOLER, J.; PASCUAL, J.C.; ELICES, M. ; VALLE, M.; ALVAREZ, E.; RIBA J.; REVENGA, M.F.; FEILDING, A.; FRIEDLANDER, P. Pharmacology, neuroscience and therapeutic potential. *Brain research bulletin*, 2016.
- DOMÍNGUEZ-CLAVÉ, E.; SOLER, J.; PASCUAL, J.C.; ELICES, M. ; FRANQUESA, A.; VALLE, M.; ALVAREZ, E.; RIBA J. Ayahuasca improves emotion dysregulation in a community sample and in individuals with borderline-like traits. *Psychopharmacology*, 2018.
- DON, N.S.; MCDONOUGH, B.E.; MOURA, G.; WARREN, C.A.; KAWANISHI, K.; TOMITA, H.; TACHIBANA, Y.; BOHLKE, M.; FARNSWORTH, N.R. Effects of ayahuasca on the human EEG. *Phytomedicine*, 1998.
- EL-SEEDI, H. R.; EL-GHORAB, D.M.H.; EL-BARBARY, M.A.; ZAYED, M.F.; GORANSSON, U.; LARSSON, S.; VERPOORTI, R. Naturally occurring xanthenes; latest investigations, isolation, structure elucidation and chemosystematics significance. *Current medicinal chemistry*, 2009.
- FÁBREGAS, J.M; GONZALEZ, D.; FONDEVILA, S.; CUTCHET, M.; FERNÁNDEZ, X.; BARBOSA, P.C.R.; ALCÁZAR-CÓRCOLES, M.A.; BARBONJO, M.J.; RIBA, J.; BOUSO, J.C. Assessment of addiction severity among ritual users of ayahuasca. *Drug and alcohol dependence*, 2010.

- FERRER,I.; BARRACHINA, M.; PUIG, B.; LAGRÁN, M.M.; MARTÍ, E.; AVILA, J.; DIERSSEN, M. Constitutive Dyrk1A is abnormally expressed in Alzheimer disease, Down syndrome, Pick disease, and related transgenic models. *Neurobiology of disease*, 2005.
- FIDLER, I. J. Tumor heterogeneity and the biology of cancer invasion and metastasis. *Cancer research*, 1978.
- FLOREA, A. M. & BÜSSELBERG, D. Cisplatin as an anti-tumor drug: cellular mechanisms of activity, drug resistance and induced side effects. *Cancers*, 2011.
- FOLEY, P. Beans, roots and leaves: a brief history of the pharmacological therapy of parkinsonism. *Wurzburg Medizinhist Mitt*, 2003.
- FONTANILLA D.; JOHANNESSEN M.; HAJIPOUR, A.R.; COZZI, N.V.; JACKSON, M.B.; RUOHO, A.E. The hallucinogen N,N-dimethyltryptamine (DMT) is an endogenous sigma-1 receptor regulator. *Science*; 323: 934–937, 2009.
- FORTUNATO, J.J.; RÉUS, G.Z.; KIRSCH, T.R.; STRINGARI, R.B.; STERTZ, L.; KAPCZINSKI, F.; PINTO, J.P.; HALLAK, J.E.; ZUARDI, A.W.; CRIPPA, J.A.; QUEVEDO, J. Acute harmine administration induces antidepressive-like effects and increases BDNF levels in the rat hippocampus. *Progress in neuropsychopharmacology & biological psychiatry*, 2009.
- FROST, D.; MEECHOOVET, B.; WANG, T.; GATELY, S.; GIORGETTI, M.; SHCHERBAKOVA, I.; DUNCKLEY, T. β -carboline compounds, including harmine, inhibit DYRK1A and Tau phosphorylation at multiple Alzheimer's disease-related sites. *Plos one*, 2011.
- GABRILOVICH, D. I.; NAGARAJ, S. Myeloid-derived suppressor cells as regulators of the immune system. *Nature Reviews Immunology*, 2012.
- GALLUZI, L.; SENOVILLA, L.; VITALE, I.; MICHELS, J.; MARTINS, I.; KEPP, O.; CASTEDO, M.; KROEMA, G. Molecular mechanisms of cisplatin resistance. *Oncogene*, 2012.
- GALVÃO-COELHO, N.L.; GALVÃO, A.C.M.; ALMEIDA, R.N.; PALHANO FONTES, F.; BRAGA, I.C.; SOARES, B.L.; MAIA-DE-OLIVEIRA, J.P.; PERKINS, D.; SARRIS, J.; ARAUJO, D.B. Changes in inflammatory biomarkers are related to the antidepressant effects of Ayahuasca. *Journal Psychopharmacology*, 2020.
- GAY, L.J. & FELDING-HABERMANN, B. Contribution of platelets of tumor metastasis. *Nature reviews cancer*, 2011.
- GENTILIN, E. New Advancements in Cisplatin-Based Treatments. *International journal of molecular sciences*, 2023.
- GIANFRATTI, B.; TABACH, R.; SAKALEM, M.E.; STESSUK, T.; MAIA, L.O.; CARLINI, E.A. Ayahuasca blocks ethanol preference in an animal model of dependence and shows no acute toxicity. *Journal of ethnopharmacology*, 2022.

- GÖCKLER, N.; JOFRE, G.; PAPADOPOULOS, C.; SOPPA, U.; TEJEDOR, F.J.; BECKER, W. Harmine specifically inhibits protein kinase DYRK1A and interferes with neurite formation. *The FEBS journal*, 2009.
- GONZÁLEZ, D.; CANTILLO, J.; PÉREZ, I.; FARRÉ, M.; FEILDING, A.; OBIOLS, J.E.; BOUSO, J.C. Therapeutic potential of ayahuasca in grief: a prospective, observational study. *Psychopharmacology*, 2019.
- GONÇALVES, J.; LUÍS, Â.; GRADILLAS, A.; GARCÍA, A.; RESTOLHO, J.; FERNÁNDEZ, N.; DOMINGUES, F.; GALLARDO, E.; DUARTE, A.P. Ayahuasca beverages: Phytochemical analysis and biological properties. *Antibiotics*, 2020.
- GONÇALVES, J.; LUÍS, Â.; GALLARDO, E.; DUARTE, A.P. Psychoactive substances of natural origin: toxicological aspects, therapeutic, properties and analysis in biological samples. *Molecules*, 2021.
- GONÇALVES, J.; CASTILHO, M.; ROSADO, T.; LUÍS, A.; RESTOLHO, J.; FERNANDEZ, N.; GALLARDO, E.; DUARTE, A.P. In vitro study of the bioavailability and bioaccessibility of the main compounds present in ayahuasca beverages. *Molecules*, 2021.
- GONÇALVES, J.; LUÍS, Â.; GALLARDO, E.; DUARTE, A.P. Evaluation of the *in vitro* wound-healing potential of ayahuasca. *Molecules*, 2022.
- GONÇALVES, J.; LUÍS, Â.; GALLARDO, E.; DUARTE, A.P. A systematic review on the therapeutic effects os ayahuasca. *Plants*, 2023.
- GUZOVSKY, E.M. Análise de alterações histopatológicas e celulares em tecidos de camundongos C57BL6/6J inoculados com células de melanoma experimental B16F10 por via subcutânea e tratados com imunomoduladores Imiquimod 5%. Mestrado (dissertação de mestrado em biotecnologia) - Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 2011.
- GRELLA, B., TEITLER, M., SMITH, C., HERRICK-DAVIS, K.; GLENNONA, R.A. Binding of beta-carbolines, 5-HT₂ serotonin receptors. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 2003.
- GROB, C.S.; MCKENNA, D.J.; CALLAWAY, J.C.; BRITO, G.S.; NEVES, E.S.; OBERLAENDER, G.; SAIDE, O.L.; LABIGALINE, E.; TACLA, C.; MIRANDA, C.T.; STRASSMAN, R.J.; BOONE, K.B. Human psychopharmacology of hoasca, a plant hallucinogen used in ritual context in Brazil. *Journal of nervous and mental disease*, 1996.
- HALBERSTADT, A.L. Recent advances in the neuropsychopharmacology of serotonergic hallucinogens. *Behavioural brain research*, 2015.
- HALPERN, J.H. Hallucinogens and dissociative agents naturally growing in the United Satates. *Journal Pharmacology and Therapeutics*, 2004.

- HALPERN, J.H.; SHERWOOD, A.R.; PASSIE, T.; BLACKWELL, K.C.; RUTTENBER, A.J. Evidence of health and safety in American members of a religion who use a hallucinogenic sacrament. *Medical science monitor*, 2008.
- HAMSA T.P. & KUTTAN, G. Harmine inhibits tumor specific neo-vessel formation by regulating VEGF, MMP, TIMP and pro-inflammatory mediators both in vivo and in vitro. *European journal of pharmacology*, 2010.
- HAMSA T.P. and KUTTAN, G. Harmine activates intrinsic and extrinsic pathways of apoptosis in B16F-10 melanoma. *Chinese medical journal*, 2011.
- HAN, X.; ZHANG, J.; GUO, L.; CAO, R.; LI, Y.; LI, N.; MA, Q.; WU, J.; WANG, Y.; SI, S. A series of beta-carboline derivatives inhibit the kinase activity of PLKs. *PloS One*, 2012.
- HOLMSTEDT, B. and LINDGREN, J. Chemical constituents and pharmacology of South American snuffs. *Psychopharmacology Bulletin*, 1967.
- HOLOHAN, C.; SCHAEYBROECK, S.V.; LONGLEY, D.B.; JOHNSTON, P.G. Cancer drug resistance: an evolving paradigm. *Nature reviews*, 2013.
- HURT, B.; SCHULICK, R.; EDEL, B.; EL KASMI, K.C.; BARNETT JR, C. Cancer-promoting mechanisms of tumor-associated neutrophils. *The American journal of surgery*, 2017.
- IKEDA, R.; KIMURA, T.; TSUTSUMI, T.; TAMIRA, S.; SAKAI, N.; KONAKAHARA, T. Structure–activity relationship in the antitumor activity of 6-, 8- or 6,8-substituted 3-benzylamino- β -carboline derivatives. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 2012.
- INCA: Instituto Nacional do Câncer, disponível em: www.inca.gov.br, acessado em 27 de outubro de 2024.
- INSERRA, A. Hypothesis: the psychedelic ayahuasca heals traumatic memories via a Sigma 1 receptor-mediated epigeneticmnemonic process. *Frontiers in pharmacology*, 2018.
- ISHIDA, J.; WANG, H.K.; BASTOW, K.F.; HU, C.Q.; LEE, K.H. Antitumor agents 201. Cytotoxicity of harmine and β -carboline analogs. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 1999.
- JACOB, M. S. & PRESTI, D. E. Endogenous psychoactive tryptamines reconsidered: an anxiolytic role for dimethyltryptamine. *Medical hypotheses*, 2005.
- JOHNSON, D.B.; MENZIES, A.M.; ZIMMER, L.; EROGLU, Z.; YE, F.; ZHAO, S.; RIZOS, H.; SUCKER, A.; SCOLYER, R.A.; GUTZMER, R.; GOGAS, H.; KEFFORD, R.F.; THOMPSON, J.F.; BECKER, J.C.; BERKING, C.; EGBERTS, F.; LOQUAI, C.; GOLDINGER, S.M.; PUPO, G.M.; HUGO, W.; KONG, X.; GARRAWAY, L.A.; SOSMAN, J.A.; RIBAS, A.; LO, R.S.; LONG, G.V.;

- SCHADENDORF, D. Acquired BRAF inhibitor resistance: a multicenter meta-analysis of the spectrum and frequencies, clinical behaviour and phenotypic associations of resistance mechanisms. *European journal of cancer*, 2015.
- JÚNIOR, W.M. Estudo do perfil genotóxico, citotóxico, neurocomportamental e bioquímico da ayahuasca em ratos *wistar* tratados com dose única. P. 91. Mestrado (dissertação de mestrado em ciências da saúde) - Universidade de Brasília, Distrito Federal, DF, 2014.
- JÚNIOR, G.J. Modelo experimental de metástases pulmonares de melanoma murino B16F10 em camundongos C57BL/6N com células tronco mesenquimais de pulmão de camundongos C57BL/6N transgênico. P.56. Tese de doutorado (tese de doutorado para obtenção de título de doutor em medicina) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2005.
- KATCHBORIAN-NETO, A.; SANTOS, W.T.; NICÁCIO, K.J.; CORRÊA, J.O.A.; MURGU, M.; MARTINS, T.M.M.; GOMES, D.A.; GOES, A.M.; SOARES, M.G.; DIAS, D.F.; CHAGAS-PAULA, D.A.; PAULA, A.C.C. Neuroprotective potential of Ayahuasca and untargeted metabolomics analyses: applicability to Parkinson's disease. *Journal of ethnopharmacol*, 2020.
- KELLAND, L. The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy. *Nature Reviews Cancer*, 2007.
- KELLEY, D.P.; VENABLE, K.; DESTOUNI, A.; BILLAC, G.; EBENEZER, P.; STADLER, K.; NICHOLS, C.; BARKER, S.; FRANCIS, J. Pharmahuasca and DMT rescue ROS production and differentially expressed genes observed after predator and psychosocial stress: Relevance to human PTSD. *ACS chemical neuroscience*, 2022.
- KUMAR, S.; SINGH, A.; KUMAR, K.; KUMAR, V. Recent insights into synthetic β -carbolines with anti-cancer activities. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2017.
- KUMMROW, F., MASELLI, B.S., LANARO, R., COSTA, J.L., UMBUZEIRO, G., LINARDI, A. Mutagenicity of ayahuasca and their constituents to the *Salmonella*/Microsome assay. *Environmental and molecular mutagenesis*, 2019.
- LABELLE, M.; BEGUM, S. & HYNES, R. O. Direct signaling between platelets and cancer cells induces an epithelial-mesenchymal-like transition and promotes metastasis. *Cancer Cell*, 2011.
- LABETE, B.C.; CAVNAR, C. The expansion of the field of research on ayahuasca: Some reflections about the ayahuasca track at the 2010 MAPS “Psychedelic Science in the 21st Century” conference. *International journal of drug policy*, 2011.
- LAFRANCE, A.; LOIZAGA-VELDER, A.; FLETCHER J.; RENELLI, M.; FILES, N.; TUPPER, K.W. Nourishing the spirit: exploratory research on ayahuasca experiences along the continuum of recovery from eating disorders. *Journal of Psychoactive Drugs*, 2017.

- LEAL, F.D. QSAR 2D/3D e docagem de inibidores da enzima DYRK1A como potenciais fármacos contra a doença de Alzheimer. 160 f. Tese (doutorado em ciências) – Instituto de química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ, 2015.
- LEICHSENDRING, F.; STEINERT, C.; RABUNG, S.; IOANNIDIS, J.P.A. The efficacy of psychotherapies and pharmacotherapies for mental disorders in adults: an umbrella review and meta-analytic evaluation of recent meta-analyses. *Journal of the world psychiatric*, 2022.
- LING, Y.; GUO, J.; YANG, Q.; ZHU, P.; MIAO, J.; GAO, W.; PENH, Y.; YANG, J.; XU, K.; XIONG, B.; LIU, G.; TAO, J.; LUO, L.; ZHU, Q.; ZHANG, Y. Development of novel β -carboline-based hydroxamate derivatives as HDAC inhibitors with antiproliferative and antimetastatic activities in human cancer cells. *European journal of medical chemistry*, 2018.
- LIU, X.; LI, M.; TAN, S.; WANG, C.; FAN, S.; HUANG, C. Harmine is an inflammatory inhibitor through the suppression of NF- κ B signaling. *Biochemical biophysical research communications*, 2017.
- LOIZAGA-VELDER, A.; VERRES, R. Therapeutic effects of ritual ayahuasca use in the treatment of substance dependence-qualitative results. *Journal psychoactive drugs* 2014.
- LUNA, L. E. Vegetalismo: shamanism among the mestizo population of the Peruvian Amazon. Studies in Comparative Religion, Almqvist and Wiksell International, Stockholm, 1986.
- MAESO-GONZALEZ, J.; WEISSTAUB, N.; ZHOU, M.; ZHOU, Q.; SEALFON, S.C.; GINGRICH, J.A.; CHAN, P.; IVIC, L.; ANG, R.; LIRA, A.; BRADLEY-MOORE, M.; GE, Y. Hallucinogens recruit specific cortical 5-HT_{2A} receptor-mediated signaling pathways to affect behavior. *Neuron*, 2007.
- MANJI, H.K.; DREVETS, W.C.; CHARNEY, D.S. The cellular neurobiology of depression. *Nature Medicine*, v. 7, p. 541-547, 2001.
- MCKENNA, D.J., TOWERS, G.H.N.; ABBOTT, F. Monoamine oxidase inhibitors in South American hallucinogenic plants: tryptamine and betacarboline constituents of ayahuasca. *Journal of ethnopharmacology*, 1984.
- MCKENNA, D.J.; TOWERS, G.H.N. On the comparative ethnopharmacology of malpighiaceae and myristicaceae hallucinogens. *Journal psychoactive drugs*, 1985.
- MCKENNA, D.J. Ayahuasca: uma história etnofarmacológica. Ayahuasca – alucinógenos, consciência e o espírito da natureza. Editora Gryphus, Rio de Janeiro, 2002.
- MCLLHENNY, E. H.; PIPKIN, K.E.; STANDISH, L. J.; WECHKIN, H.A.; STRASSMAN, R.; BARKER, S.A. Direct analysis of psychoactive tryptamine and

- harmala alkaloids in the Amazonian botanical medicine Ayahuasca by liquid chromatography. *Journal of chromatography*, 2009.
- MCLLHENNY, E. H.; RIBA, J.; BARBANOJ, M.J.; STRASSMAN, R.; BARKER, S.A. Methodology for determining major constituents of ayahuasca and their metabolites in blood. *Biomedical chromatography*, 2011.
- MCMILLAN, D. C. Systemic inflammation, nutritional status and survival in patients with cancer. *Current opinion in clinical nutrition & metabolic care*, 2013.
- MEINGUET, C.; BRUYERE, C.; FREDERICK, R.; MATHIEU, V.; VANCRAEYNEST, C.; POCHET, L.; LALY, J. MORTIER, J.; WOLBER, G.; KISS, R.; MASEREEL,B.; WOUTERS. 3D-QSAR, design, synthesis and characterization of trisubstituted harmine derivatives with *in vitro* antiproliferative properties. *European journal of medical chemistry*, 2015.
- MELLO, S.M.; SOUBHIA, P.C.; SILVEIRA, G.; CORRÊA-NETO, N.F.; LANARO, R.; COSTA, J.L.; LINARDI, A. Effect of ritualistic consumption of ayahuasca on hepatic function in chronic users. *Journal of psychoactive drugs*, 2018.
- MENEGUETTI, D.U.O.; MENEGUETTI, N.F.S.P. Benefícios a saúde ocasionados pela ingestão da Ayahuasca: contexto social e ação neuropsicológica, fisiopatológica, microbiológica e parasitária. *Cadernos brasileiros de saúde mental*, 2014.
- METZNER, R. Sacred vine of spirits: ayahuasca. Park Street Press, Rochester, 2006.
- MILLER, M. J.; ALBARRACIN-JORDAN, J.; MOORE, C.; CAPRILLES, J.M. Chemical evidence for the use of multiple psychotropic plants in a 1,000-year-old ritual bundle from South America. *PNAS*, 2019.
- MORALES-GARCIA, J.A.; CALLEJA-CONDE, J.; LOPEZ-MORENO, J.A.; ALONSO-GIL, S.; SANZ-SANCRISTOBAL,M.; RIBA,J.; PEREZ-CASTILLO, A. N,N-dimethyltryptamine compound found in the hallucinogenic tea ayahuasca, regulates adult neurogenesis *in vitro* and *in vivo*. *Translational psychiatry*, 2020.
- MOR, G.; ALDO, P.; ALVERO, A.B. The unique immunological and microbial aspects of pregnancy. *Nature reviews immunology*, 2017.
- MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of immunological methods*, 1983.
- NESTLER, J.; BARROT, M.; DILEONE, R.J.; EISCH, A. J.; GOLD, S.J.; MONTEGGIA, L.M. Neurobiology of depression. *Neuron*, 2002.
- NEWMAN, D. J. & CRAGG, G. M. *Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014*. *Journal of Natural Products*, 2016.
- NGUYEN, T.D.; KOWALEC, K.; PASMAN, J., LARSSON, H.; LICHTENSTEIN, P.; DALMAN, C.; SULLIVAN, P.F.; HALKOLA, R.K.; LU, Y. Genetic

- contribution to the heterogeneity of major depressive disorder: evidence from sibling-based design using Swedish national registers. *American journal of psychiatry*, 2023.
- NICHOLS, D. E. Hallucinogens. *Pharmacology & Therapeutics*, 2004.
- NICHOLS, D. E. *Psychedelics. Pharmacological Reviews*, 2016.
- NIELSON, J.L; MEGLER, J.D. Ayahuasca as a Candidate Therapy for PTS B.C. Labate, C. Cavnar (Eds.). The Therapeutic Use of Ayahuasca, Springer, Heidelberg, Baden-Württemberg, 2014.
- NIITSU, T.; IYO, M.; HASHIMOTO, K. Sigma-1 receptor agonists as therapeutic drugs for cognitive impairment in neuropsychiatric diseases. *Current pharmaceutical design*, 2012.
- NIZNANSKY, L.; NIZHANSKÁ, Z.; KURUC, R.; SZORADOVÁ, A.; SIKUTA, J.; ZUMMEROVÁ, A.; Ayahuasca as a decoction applied to human: analytical methods, pharmacology and potential toxic effects. *Journal of clinical medicine*, 2022.
- NOLLI, L.M.; OLIVEIRA, D.G.R.; ALVES, S.S.; ZUBEN, M.V.V.; PICTAYLOR, A.; MORTARI, M.R.; CALDAS, E.D. Effects of the hallucinogenic beverage ayahuasca on voluntary ethanol intake by rats and on *c-fos* expression in brain areas relevant to drug addiction. *Alcohol*, 2020.
- O'CONNOR, K.A.; ROTH, B.L. Screening the receptorome for plant-based psychoactive compounds. *Life sciences*, 2005.
- OLIVEIRA, P.A.; COLAÇO, A.; CHAVES, R.; GUEDES-PINTO, H.; DE-LA-CRUZ, L.F. P.; LOPES, C. *Chemical carcinogenesis*. Annals of the Brazilian academy of sciences, 2007.
- OLIVEIRA-LIMA, A.J.; SANTOS, R.; HOLLAIS, A.W.; GERARDI-JUNIOR, C.A.; BALDAIA, M.A.; WUO-SILVA, R.; YOKOYAMA, T.S.; COSTA, J.L.; MALPEZZI-MARINHO, E.L.A.; RIBEIRO-BARBOSA, P.C.; BERRO, L.F.; FRUSSA-FILHO, R.; MARINHO, E.A.V. Effects of ayahuasca on the development of ethanol-induced behavioral sensitization and on a post-sensitization treatment in mice. *Physiology & Behavior*, 2015.
- OSÓRIO, F.L.; SANCHES, R.F.; MACEDO, L.R.; SANTOS, R.G.; MAIA-OLIVEIRA, J.P.; WICHERT-ANA, L.; ARAUJO, D.B.; RIBA, J.; CRIPPA, J.A.; HALLAK, J.E. Antidepressant effects of a single dose of ayahuasca in patients with recurrent depression: a preliminary report. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 2015.
- OWENS, M. J. & NEMEROFF, C. B. "Role of serotonin in the pathophysiology of depression: focus on the serotonin transporter." *Clinical chemistry*, 1994.
- PALHANO-FONTES, F.; ANDRADE, K.C.; TOFOLO, L.; SANTOS, A.C.; CRIPPA, J.A.; HALLAK, J.E.; RIBEIRO, S.; ARAÚJO, D.B. *The psychedelic state induced*

by ayahuasca modulates the activity and connectivity of the brain's default mode network. PLoS ONE, 2015.

PALHANO-FONTES, F.X. Os efeitos antidepressivos da ayahuasca, suas bases neurais e relação com a experiência psicodélica. Tese doutorado em neurociências – Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal, p. 186, 2017.

PALHANO-FONTES, F.; BARRETO, D.; ONIAS, H.; ANDRADE, K. C.; NOVAES, M. M.; PESSOA, J. A.; MOTA-ROLIM, S.A.; OSÓRIO, F.L.; SANCHES, R.; SANTOS, R.G.; TÓFOLI, L.F.; SILVEIRA, G.O.; YONAMINE, M.; RIBA, J.; SANTOS, F.R.; SILVA-JUNIOR, A.A.; ALCHIERI, J.C.; GALVÃO-COELHO, N.L.; LOBÃO-SOARES, B.; HALLAK, J.E.C.; ARCO-VERDE, E.; MAIA-OLIVEIRA, P.; ARAÚJO, D.B. Rapid antidepressant effects of the psychedelic ayahuasca in treatment-resistant depression: a randomized placebo-controlled trial. *Psychological Medicine*, 2019.

PIC-TAYLOR, A.; MOTTA, L.G.; DE MORAIS, J.A.; SANTOS, A.F.; CAMPOS L.A.; VON ZUBEN, M.V.; CALDAS, E.D. Behavioural and neurotoxic effects of ayahuasca infusion (*Banisteriopsis caapi* and *Psychotria viridis*) in female wistar rat. *Behavioural processes*, 2015.

PIRES, J.M.; MENDES, F.R.;PIRES, A.P.S.; YONAMINE, M.; AMARAL, J.L.G.; CARLINI, E.A. Pre-clinical interaction of ayahuasca, a brew used in spiritual movements, with morphine and propofol. *Brazilian journal of pharmaceutical sciences*, 2018.

PELLETIER, S.W. The nature and definition of an alkaloid. In: Alkaloids and biological perspectives. John Wiley, New York, 1983.

POROLIN, M.B; REASON, I.J.M. Apoptosis as a mechanism of tissue injury in hepatobiliary diseases. *Gastroenterol*, 2001.

PORTARIA SVS/MS nº 344 da ANVISA [Ordinance SVS/MS n. 344 from the National Health Surveillance Agency]. (1998, May 12). Brasília.

PORTO, H.K.P. Avaliação do potencial antitumoral de dois novos complexos de rutênio (II) contendo alanina e triptofano em suas estruturas. Dissertação de Mestrado em ciências farmacêuticas – Universidade Federal de Goiás. Goiânia, p.95, 2012.

RACICOT, K.; MOR, G. Risks associated with viral infections during pregnancy. *The journal of clinical investigation*, 2017.

RESOLUÇÕES: Nº 4/2004 CONAD e Nº1/2010 CONAD.

RIBA, J.; ANDERER, P.; MORTE, A.; URBANO, G.; JANÉ, F.; SALETU, B.; BARBANOJ, M.J. Topographic pharmaco-EEG mapping of the effects of the South American psychoactive beverage ayahuasca in healthy volunteers. *British journal of clinical pharmacology*, 2002.

- RIBA, J.; ANDERER, P.; JANÉ, F.; SALETU, B.; BARBANOJ, M.J. Effects of the South American psychoactive beverage ayahuasca on regional brain electrical activity in humans: A functional neuroimaging study using low-resolution electromagnetic tomography. *Neuropsychobiology*, 2004.
- RIBA, J.; ROMERO, S.; GRASA, E.; MENA E.; CARRIÓ I.; BARBANOJ, M.J. Increased frontal and paralimbic activation following ayahuasca, the pan-amazonian inebriant. *Psychopharmacology*, 2006.
- RIBA, J.; RODRÍGUEZ-FORNELLS, A.; URBANO, G.; MORTE, A.; ANTONIJOAN, R.; MONTERO, M.; CALLAWAY, J.C.; BARBANOJ, M.J. Subjective effects and tolerability of the South American psychoactive beverage Ayahuasca in healthy volunteers. *Psychopharmacology*, 2001.
- RIBA, J.; VALLE, M.; URBANO, G.; YRITIA, M.; MORTE, A.; BARBANOJ, M.J. Human pharmacology of ayahuasca: subjective and cardiovascular effects, monoamine metabolite excretion, and pharmacokinetics. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2003.
- RODRIGUES, A.V.S.L.; ALMEIDA, F.J.C.G.; VIEIRA-COELHO, M.V. Dimethyltryptamine: endogenous role and therapeutic potential. *Journal of Psychoactive Drugs*, p.1-12, 2019.
- RUSSO, E. B. History of cannabis and its preparations in saga, science, and sobriquet. *Chemistry & Biodiversity*, 2007.
- RUIZ, F.S.; ANDERSEN, M.L.; MARTINS, R.C.; ZAGER, A.; LOPES, J.D.; TUFIK, S. Alterações imunológicas após movimento rápido seletivo dos olhos ou privação total do sono em voluntários saudáveis do sexo masculino. *Imunoinata*, 2012.
- SAMORINI, G. The oldest representations of hallucinogenic mushrooms in the World. *Integration: Journal of Mind-Moving Plants and Culture*, 1992.
- SAMOYLENKO, V.; RAHMAN, M.; TEKWANI, B.L.; TRIPATHI, L.M.; WANG, Y.H.; KHAN, S.I.; KHAN, I.A.; MILLER, L.S.; JOSHI, V.C.; MUHAMMAD, I. *Banisteriopsis caapi*, a unique combination of MAO inhibitory and antioxidative constituents for the activities relevant to neurodegenerative disorders and Parkinson's disease. *Journal of ethnopharmacology*, 2010.
- SANCHES, R.F.; OSÓRIO, F.L.; SANTOS, R.G.; MACEDO, L.R.H.; MAIA-DE-OLIVEIRA, J.P.; Wichert, A.L.; ARAÚJO, D.B.; RIBA, J.; CRIPPA, J.A.S.; HALLAK, J.E.C. Antidepressant effects of a single dose of ayahuasca in patients with recurrent depression: a SPECT study. *Journal of Clinical Psychopharmacology*, 2016.
- SÁNCHEZ, C.; BOUSO, J.C. Ayahuasca: From the Amazon to the Global Village ICRRS. Transnational Institute, 2015.
- SANTOS, R.G.; MORAES, C.C.; HOLANDA, A. Ayahuasca e redução do uso abusivo de psicoativos: eficácia terapêutica? *Psicologia: teoria e pesquisa*, 2006.

- SANTOS, R.G. FERNANDEZ, J.L.; STRASSMAN, R.J.; CRUZ, A.P.M. Effects of ayahuasca on psychometric measures of anxiety, panic-like and hopelessness in Santo Daime members. *Journal ethnopharmacology*, 2007.
- SANTOS, B.W.L.; MOREIRA, D.C.; BORGES, T.K.D.S.; CALDAS, E.D. Components of *Banisteriopsis caapi*, a plant used in the preparation of the psychoactive ayahuasca, induce anti-inflammatory effects in microglial cells. *Molecules*, 2022.
- SCHENBERG, E. Ayahuasca and cancer treatment. *Sage Open Medicine*, 2013.
- SCHIMID J.T.; JUNGABERLE H.; VERRE, S.R. Subjective theories about (self-) treatment with ayahuasca. *Anthropol Conscious* 21(2): 188–204, 2010.
- SCHUZ, J.; ESPINA, C.; VILLAIN, P.; HERRERO, R.; LEON, M.E.; MINOZZI, S.; ROMIEU, J.; SEGNAN, N.; WARDLE, J.; WISEMAN, M.; BELARDELLI, F.; BETTCHER, D.; CAVALLI, F.; GALEA, G.; LENOIR, G.; MORENO, J.M.M.; NIAELA, F.A.; OSLEN, J.H.; PATRICK, J.; ZAKELJ, M.P.; LIGNINI, T. European code against cancer 4th edition: 12 ways to reduce your cancer risk. *Cancer epidemiology*, 2015.
- SCHWARZ, M.J.; HOUGHTON, P.J.; ROSE, S.; JENNER, P.; LEES, A.D. Activities of extract and constituents of *Banisteriopsis caapi* relevant to parkinsonism. *Pharmacology biochemistry and behavior*, 2003.
- SCHULTES, R. E., & HOFMANN, A. Plants of the Gods: Their Sacred, Healing, and Hallucinogenic Powers. *Journal of ethnobiology*, 1979.
- SCHUMACHER, D., *et al.* Platelets promote tumor cell adhesion to the endothelium and facilitate early metastatic seeding in vivo. *Thrombosis Research*, 2013.
- SERRANO-DUEÑAS, M.; CARDOZO-PELAEZ, F.; SÁNCHEZ-RAMOS, J.R.; ELICES, M.; FRANQUESA, A.; VALLE, M.; ALVAREZ, E.; RIBA J. Effects of *Banisteriopsis caapi* extract on Parkinson's disease. *The Scientific Review of Alternative Medicine*, 2001.
- SETHI, S. & CHATURVEDI, C.M.R. Temporal synergism of neurotransmitters and role of R famide-related peptide-3. *Biomedical research international*, 2016.
- SHAHINAS, D.; MACMULLIN, G.; BENTO, C.; CRANDALL, I.; PILLAI, D.R. Harmine is a potent antimalarial targeting Hsp90 and synergizes with chloroquine and artemisinin. *Antimicrob agents chemother*, 2012.
- SHANKARAIHAH, N.; NEKKANTI, S.; CHUDASAMA, K.J.; SENWAR, K.R.; SHARMA, P.; JEENGAR, M.K.; NAIDU, V.G.M.; SRINIVASULU, V.; SRINIVASULU, G.; KAMAL, A. Design, synthesis and anticancer evaluation of tetrahydro- β -carboline-hydantoin hybrids. *Bioorganic e medical chemistry letters*, 2014.

- SILA, C.D.D.; MOTA, D.A. Ciências da vida: estudo das plantas, animais e seres humanos. Ponta Grossa: Paraná. Editora Atena, 2022.
- SILVA, M.G.; DAROS, G.C.; SANTOS, F.P.; YONAMINE, M.; BITENCOURT, R.M. Antidepressant and anxiolytic-like effects of ayahuasca in rats subjected to LPS-induced neuroinflammation. *Behavioural brain research*, 2022.
- SIMÃO, A.Y.; GONÇALVES, J.; GRADILLAS, A.; GARCÍA, A.; RESTOLHO, J.; FERNÁNDEZ, N.; RODILLA, J.M.; BARROSO, M.; DUARTE, A.P.; CRISTÓVÃO, A.C.; GALLARDO, E. Evaluation of the cytotoxicity of ayahuasca beverages. *Molecules*, 2020.
- SIWEN, L.; WANG, A.; GU, F.; WANG, Z.; TIAN, C.; QIAN, Z.; TANG, L.; GU, Y. Novel harmine derivatives for tumor targeted therapy. *Oncotarget*, 2015.
- SMITH, R.L., CANTON, H., BARRET, R. J.; SANDERS-BUSH, E. Agonist properties of N, N-dimethyltryptamine at 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} serotonin receptors. *Pharmacology biochemistry and behavior*, 1998.
- SNYDER, R. D. Possible structural and functional determinants contributing to the clastogenicity of pharmaceuticals. *Environmental and molecular mutagenesis*, 2010.
- SOLIMAN, P.S.; CURLEY, D.E.; CAPONE, C.; EATON, E.; HAASS-KOFE, C.L. In the new era of psychedelic assisted therapy: A systematic review of study methodology in randomized controlled trials. *Psychopharmacology*, 2024.
- SPRANGER, S; GAJEWSKI, T.F. Impact of oncogenic pathways on evasion of antitumour immune responses. *Nature reviews cancer*, 2018.
- STRASSMAN, R. *DMT: The Spirit Molecule*. Rochester, VT: Park Street Press, 2001.
- STRASSAM, R. *DMT: A molécula do espírito*. 1º Edição. Brasília. Editora Pedra Nova, 2019.
- STROBER, W. Trypan blue exclusion test of cell viability. *Current protocols in immunology*, 2015.
- SU T.P.; HAYASHI, T.; MAURICE T.; HAYASHI, T.; BUCH, S.; RUOHO, A. The sigma-1 receptor chaperone as an inter-organelle signaling modulator. *Trends Pharmacol*, 2010.
- SUZUKI, H., *et al.* Tumor-induced neutrophil accumulation promotes tumor progression and metastasis. *Cancer Research*, 2015.
- SUNG, H.; FERLAY, J.; SIEGEL, R.B.; LAVERSANNE, M.; SOERJOMATARAM, I.; JEMAL, A.; BRAY, F. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *Cancer Journal for Clinicians*, 2021.

- SZABO, A. Psychedelics and immunomodulation: Novel approaches and therapeutic opportunities. *Frontiers in Immunology*, 2015.
- TAGLIAZUCCHI, E.; CARHART-HARRIS, R.; LEECH, R.; NUTT, D.; CHIALVO, D.R. Enhanced repertoire of brain dynamical states during the psychedelic experience. *Human Brain Mapping*, 2014.
- TOMAYKO, M.M; REYNOLDS, C.P. Determination of subcutaneous tumor size in athymic (nude) mice. *Cancer chemotherapy and pharmacology*, 1989.
- TOPPING D.M. Ayahuasca and cancer: a postscript. *Bulletin of the multidisciplinary association for psychedelic studies*, 9: 22–25, 1999.
- TRICKLEBANK, M.; DALY, E. The serotonin system: history, neuropharmacology and pathology. 1^o Edition. London. *Academic press*, 2019.
- TUPPER, K.W. Entheogens and existential intelligence: The use of plant teachers as cognitive tools. *Canadian journal of education*, 2002.
- TUPPER, K.W.; WOOD, E.; YENSEN, R.; JOHNSON, M.W. Psychedelia medicine: a re-emerging therapeutic paradigm. *Canadian medical association journal*, 2015.
- VALENTE, S.C.M. Marcação da Anexina V para imagem funcional da apoptose celular. Dissertação de mestrado para obtenção do título de mestre na Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa, 2011.
- VEDOVATO, K.; TREVIZAN, A.R.; ZUCOLATO, C.N.; BERNARDI, M.D.L.; ZANONI, J.N.; MARTINS, J.V.C.P. O eixo intestino-cérebro e o papel da serotonina. *Arquivos de ciências da saúde da UNIPAR*, 2014.
- VIOL, A.; PALHANO-FONTES, F.; ONIAS, H.; DE ARAUJO, D.B.; VISWANATHAN, G.M. Shannon entropy of brain functional complex networks under the influence of the psychedelic Ayahuasca. *Scientific reports*, 2017.
- WANG, D. & LIPPARD, S. J. Cellular processing of platinum anticancer drugs. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2005.
- WANG, Y.H.; SAMOYLENKO, V.; TEKWANI, B.L.; KHAN, I.A.; MILLER, L.S.; CHAURASIYA, N.D.; RAHMAN, M.; TRIPATHI, L.M.; KHAN, S.I.; JOSHI, V.C.; WIGGER, F.T.; MUHAMMAD, I. Composition, standardization and chemical profiling of *Banisteriopsis caapi*, a plant for the treatment of neurodegenerative disorders relevant to Parkinson's disease. *Journal of ethnopharmacology*, 2010.
- WANG, Y.; Wang, C.; JIANG, C.; ZENG, H.; HE, X. Novel mechanism of harmaline on inducing G2/M cell cycle arrest and apoptosis by up-regulating Fas/FasL in SGC-7901 cells. *Scientific reports*, 2015.
- WEISS, G.; GODNOUGH, L.T. Anemia of chronic disease. *The new England journal of medicine*, 2005.

World Health Organization (WHO), Global status report on alcohol and health, Geneva, 2018.

World Health Organization (WHO), Report on cancer setting priorities, investing wisely and providing care for all, 2020.

World Health Organization (WHO), World mental health report- transforming mental health for all, 2022.

YANG, M.; KUO, P.; HWANG, T.; CHIOU, W.; QIAN, K.; LAI, C.; LEE, K.; WU, T. Synthesis *in vitro* anti-inflammatory and cytotoxic evaluation, and mechanism of action studies of 1-benzoyl- β -carboline and 1-benzoyl-3-carboxy- β -carboline derivatives. *Bioorganic and medical chemistry*, 2011.

YOUNG, S. N. & LEYTON, M. *The role of serotonin in human mood and social interaction: Insight from altered tryptophan levels. Pharmacology, biochemistry and behavior*, 2002.

ZEIFMAN, R.J.; PALHANO-FONTES, F.; HALLAK, J.; ARCO-VERDE, E.; MAIA-OLIVEIRA, J.P.; ARAUJO, D.B. The impact of ayahuasca on suicidality: results from a randomized controlled trial. *Clinical trial*, 2019.

ZHONG, Q.; WEN, Y.J.; YANG, S.H.; LUO, H.; FU, F.A.; YANG, F.; CHEN, L.J.; CHEN, X.; QI, X.R.; LIN, H.G.; WAN, Y.; CHEN, X.C.; WEI, Y.Q.; ZHAO, X. Efficient inhibition of cisplatin resistant human ovarian cancer growth and prolonged survival by gene transferred vesicular stomatitis virus matrix protein in nude mice. *Annals of oncology*, 2008.

ANEXO 1

		Universidade de Brasília Comissão de Ética no Uso Animal
Brasília, 22 de fevereiro de 2023.		
CERTIFICADO		
Certificamos que o projeto intitulado “AVALIAÇÃO DO EFEITO DO CHÁ DE AYAHUASCA (<i>Banisteriopsis caapi</i> E <i>Psychotria viridis</i>) EM TUMORES”, SEI n. 23106.028573/2022-39, sob responsabilidade da pesquisadora Aline Pic-Taylor, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA, foi avaliado e aprovado pela Comissão de Ética no Uso Animal (CEUA) da Universidade de Brasília, na 186ª reunião ordinária, em 12/12/2022. Este projeto foi aprovado para utilização de <i>Mus musculus</i> (C56BL/6, 56 machos e fêmeas) (nude HFH, 144 machos e fêmeas), provenientes do Biotério da Universidade Federal de Goiás. O presente certificado é válido pelo período de 22/02/2023 a 20/12/2025.		
	 Dra. Carina da Costa Krewer Coordenadora da CEUA – UnB	
*Este documento se restringe à avaliação ética do projeto supracitado e não substitui outras licenças e permissões que porventura se façam necessárias.		