



**CONFORME SOLICITAÇÃO DO AUTOR, ESTA
PRODUÇÃO INTELECTUAL POSSUI
RESTRIÇÃO DE ACESSO**

**CAXIAS DO SUL
2018**

UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL – UCS
ÁREA DO CONHECIMENTO DE CIÊNCIAS DA VIDA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

Efeito antinociceptivo e marcadores de estresse oxidativo do extrato enriquecido com alcaloides indólicos ativos das folhas de *Tabernaemontana catharinensis*.

Dáfiner Pergher

Caxias do Sul, 2018.

Dáfiner Pergher

Efeito antinociceptivo e marcadores de estresse oxidativo do extrato enriquecido com alcaloides indólicos ativos das folhas de *Tabernaemontana catharinensis*.

“Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia da Universidade de Caxias do Sul, visando à obtenção de grau de Mestre em Biotecnologia”, orientada por Dr. Sidnei Moura e Silva, co-orientadores: Dra. Jozi Godoy Figueiredo e Dr. Leandro Tasso.

Caxias do Sul, 2018.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Universidade de Caxias do Sul
Sistema de Bibliotecas UCS - Processamento Técnico

P439e Pergher, Dáfiner

Efeito antinociceptivo e marcadores de estresse oxidativo do extrato enriquecido com alcalóides indólicos ativos das folhas de *Tabernaemontana catharinensis* / Dáfiner Pergher. – 2018.

83 f. : il. ; 30 cm

Dissertação (Mestrado) - Universidade de Caxias do Sul, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, 2018.

Orientação: Sidnei Moura e Silva.

Coorientação: Jozi Godoy Figueiredo, Leandro Tasso.

1. Plantas medicinais. 2. Etnofarmacologia. 3. *Tabernaemontana*. 4. Alcalóides indólicos. I. Silva, Sidnei Moura e, orient. II. Figueiredo, Jozi Godoy, coorient. III. Tasso, Leandro, coorient. IV. Título.

CDU 2. ed.: 633.88

DÁFINER PERGHER

**EFEITO ANTINOCICEPTIVO E MARCADORES DE ESTRESSE
OXIDATIVO DO EXTRATO ENRIQUECIDO COM ALCALOIDES
INDÓLICOS ATIVOS DAS FOLHAS DE *TABERNAEMONTANA*
CATHARINENSIS.**

“Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia da Universidade de Caxias do Sul, visando a obtenção de grau de Mestre em Biotecnologia”, Dr. Sidnei Moura e Silva, co-orientadores: Dra. Jozi Godoy Figueiredo e Dr. Leandro Tasso.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM

Banca Examinadora:

Dr. Angelo Luis Stapassoli Piato

Dr. Pablo Machado

Dr. André Felipe Streck

RESUMO

A etnofarmacologia tem sido importante para a identificação de compostos ativos de produtos naturais, principalmente em plantas. A dor pode ter diversas etiologias, com mecanismos complexos, estando correlacionadas com mais diversas patologias. Atividades farmacológicas de *Tabernaemontana catharinensis* (Apocynaceae) têm sido evidenciadas como: antiofídica, antimicrobiana, antioxidante, antitumoral, bioinseticida, antiinflamatória e antinociceptiva. Desta forma, o trabalho apresentou como objetivo a avaliação do potencial antinociceptivo e a modulação do estresse oxidativo do extrato enriquecido em alcaloides indólicos proveniente de folhas de *Tabernaemontana catharinensis* (AITc), em modelos experimentais de nocicepção, estresse oxidativo e toxicológicos. O extrato de AITc foi obtido por extração com ultrassom seguido por uma extração líquido-líquido, a partir de folhas de *T. catharinensis*. A composição química do extrato foi determinada por espectrometria de massas de alta resolução. Para os testes *in vivo*, foram utilizados camundongos machos (*Mus musculus*) Swiss, sendo o extrato administrado em doses de 1,0, 5,0 e 10,0 mg/kg, nos ensaios: ácido acético, formalina, *tail-immersion*, placa quente e campo aberto, nos quais foram utilizados grupos controle salina, morfina ou diazepam dependendo do teste a ser realizado. A avaliação histopatológica e de marcadores de estresse oxidativo foi executada através da coleta e avaliação dos órgãos (baço, rins, fígado, cérebro, estômago). Os resultados desse trabalho evidenciaram na caracterização química a presença de 10 alcaloides indólicos da classe ibogan (Ibogamina, Coronaridina e Voacristina); enquanto outros três (Affinisine, Voachalotina e 12-metoxi-Nb-methylvoachalotina), alcaloides pertencentes à classe dos corinarianos. O extrato em doses variando de 5,0 a 10,0 mg/kg, apresentaram efeito antinociceptivo no teste de ácido acético, inibindo em 47,7% e 61,6% respectivamente. No teste de formalina, foi observada uma redução no tempo de lambertura das patas de 47,1% (1º fase) e 43,6% (2º fase) para dose de 5,0 mg/kg. No entanto, os testes *tail-immersion* e placa quente, não expressaram modificações no período de latência, enquanto no ensaio de campo aberto, não houve alterações na atividade locomotora. O dano oxidativo aos lipídios foi maior no estômago, e uma redução deste parâmetro foi encontrado no cérebro. Não foram observadas diferenças nos níveis de óxido nítrico e no estado antioxidante total em nenhum dos tecidos estudados. Os ensaios toxicológicos, bioquímico e o hemograma, assim como o histopatológico, não mostraram efeitos adversos nas doses administradas. Desta forma, o extrato alcaloidal de *T. catharinensis* justifica o uso desta planta na medicina popular como analgésico, provavelmente resultado de um mecanismo de ação periférico no entanto mais experimentos serão realizados no intuito de elucidar o mecanismo exato. Esse estudo demonstra que o extrato de AITc, não apresentou toxicidade, garantindo a utilização segura pela população.

PALAVRAS-CHAVES: Nocicepção; Plantas medicinais; Alcaloides indolicos.

ABSTRACT

Ethnopharmacology has been important for the identification of active compounds of natural products, mainly in plants. The pain can have diverse etiologies, with complex mechanisms, being correlated with more diverse pathologies. Pharmacological activities of *Tabernaemontana catharinensis* (Apocynaceae) have been evidenced as: antiofidic, antimicrobial, antioxidant, antitumor, bioinseticide, anti-inflammatory and antinociceptive. The objective of this work was to evaluate the antinociceptive potential and the modulation of the oxidative stress of the enriched extract of the indole alkaloids from leaves of *Tabernaemontana catharinensis* (AITc) in experimental models of nociception, oxidative stress and toxicology. The AITc extract was obtained by ultrasonic extraction followed by a liquid-liquid extraction from leaves of *T. catharinensis*. The chemical composition of the extract was determined by high resolution mass spectrometry. For the *in vivo* tests, male mice (*Mus musculus*) Swiss were used, the extract being administered in doses of 1,0, 5,0 and 10,0 mg / kg, in the following tests: acetic acid, formalin, tail-immersion, hot plate and open field, in which saline, morphine or diazepam groups were used depending on the test to be performed. The histopathological evaluation and oxidative stress markers were performed through the collection and evaluation of organs (spleen, kidneys, liver, brain, stomach). The results of this work evidenced in the chemical characterization the presence of 10 ibolan class Ibolan alkaloids (Ibogamine, Coronaridina and Voacristina); while another three (Affinisine, Voachalotine and 12-methoxy-Nb-methylvoachalotine), alkaloids belonging to the class of Corinaniens. The extract in doses ranging from 5,0 to 10,0 mg / kg, showed antinociceptive effect in the acetic acid test, inhibiting in 47.7% and 61.6% respectively. In the formalin test, a reduction in the lymph time of the legs of 47.1% (1st stage) and 43.6% (2nd stage) was observed for a dose of 5,0 mg / kg. However, the tail-immersion and hot plate tests did not express changes in the latency period, whereas in the open field test, there were no changes in locomotor activity. The oxidative damage to the lipids was higher in the stomach, and a reduction of this parameter was found in the brain. No differences in nitric oxide levels and total antioxidant status were observed in any of the tissues studied. The toxicological, biochemical and hematological tests, as well as the histopathological tests, showed no adverse effects at the administered doses. In this way, the alkaloidal extract of *T. catharinensis* justifies the use of this plant in the popular medicine as analgesic, probably result of a mechanism of peripheral action however more experiments will be carried out in order to elucidate the exact mechanism. This study demonstrates that the AITc extract had no toxicity, guaranteeing safe use by the population.

KEYWORDS: Nociception; Medicinal plants; Indole alkaloids.