

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**  
Programa de Pós-Graduação em Análises Toxicológicas

Estudos de farmacocinética dos alcalóides da ayahuasca

Ana Paula Salum Pires

Dissertação para obtenção do grau de  
MESTRE

Orientador:  
Prof. Dr. Mauricio Yonamine

São Paulo  
2009

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**  
Programa de Pós-Graduação em Análises Toxicológicas

Estudos de farmacocinética dos alcalóides da ayahuasca

Ana Paula Salum Pires

Dissertação para obtenção do grau de  
MESTRE

Orientador:  
Prof. Dr. Mauricio Yonamine

São Paulo  
2009

**Ficha Catalográfica**

Elaborada pela Divisão de Biblioteca e  
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

Pires, Ana Paula Salum

P667e Estudos de farmacocinética dos alcalóides da ayahuasca /  
Ana Paula Salum Pires. -- São Paulo, 2009.  
135p.

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas  
da Universidade de São Paulo. Departamento de Análises Clínicas  
e Toxicológicas.

Orientador: Yonamine, Maurício

1. Farmacocinética 2. Farmacognosia 3. Alcalóide :  
Farmacognosia I. T. II. Yonamine, Maurício, orientador.

615.7f CDD

Ana Paula Salum Pires

Estudos de farmacocinética dos alcalóides da ayahuasca

Comissão Julgadora  
da  
Dissertação para obtenção do grau de Mestre

Prof. Dr. Maurício Yonamine  
orientador/presidente

---

1º. examinador

---

2º. examinador

São Paulo, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.

***Este trabalho é dedicado à:***

*A meu esposo Humberto pela eterna presença nas horas difíceis  
e infinita compreensão em todos os momentos*

*A meu pai fonte inesgotável de caráter e inteligência  
A minha mãe Lina e minhas irmãs Regiane e Mônica pelo amor e  
compreensão por minhas freqüentes ausências*

*A meu orientador e professor Mauricio por compartilhar comigo sua sabedoria  
e sempre me mostrar o melhor caminho a ser seguido*

*A meus "bebês" que me entendem, me acompanham e são minha inspiração*

## *Agradecimentos*

*A DEUS que é presença constante em minha vida e me dá forças para não desistir nunca*

*Aos meus mestres, responsáveis por meu aperfeiçoamento e motivação na arte do saber*

*Aos meus pais, que incentivaram e possibilitaram minha vida acadêmica, Ruben, Lina e meus familiares, Regiane, Mônica, Heloisa, Camila, Karen, Claudinei e Luis que de uma forma ou de outra, sempre me mostram que tudo vale a pena*

*A meu professor Mauricio Yonamine, pela persistente presença, ensinamentos, confiança para a realização desse trabalho e também por ser para mim modelo de conduta profissional e pessoal*

*Aos professores da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Dr. Ernani Pinto, Dra. Tânia Marcourakis, Dra. Regina Lúcia pelo apoio e incentivo*

*As professoras Tânia Gouato e Alice Chasin por me mostrarem o caminho inicial e ser seguido e sempre acreditaram em mim.*

*Ao Sidnei e Felipe pelo auxílio na síntese dos padrões*

*A Daniela Mendes pela amizade, companheirismo e força*

*A Sandra Donnangelo que não desiste nunca*

*Ao Rodrigo que participou ativamente da formatação desse trabalho*

*Aos meus colegas pós-graduandos: Carolina, Rafael, Raphael Caio, Filipe, Simone, Lívia, Larissa, Tiago, Amanda, Daniel, Fabiana dos Anjos, Vânia, Fabiana Missau, Stella, Wagne, pela convivência e amizade*

*Aos funcionários da Toxicologia: Beatriz, Ângelo, Felipe, Roseli, Helena, Luzia, Dalva e também aos estagiários pela colaboração.*

*A FAPESP pelo financiamento do projeto*

*A todos vocês, muito obrigada!*

"Se pude ver mais longe é porque estava me apoiando nos ombros de gigantes."

Isaac Newton



**Há uma bela história quéchua que sintetiza o trabalho do Mestre.**

Yuyari, discípulo do Mestre Pacaric, lhe perguntou um dia:

- Em que consiste a sabedoria?

- Em amar aos homens, respondeu-lhe o Mestre.

Em outra ocasião, Pirgue, outro discípulo de Pacaric, lhe perguntou:

- Em que consiste a sabedoria?

- Em conhecer os homens, respondeu-lhe o Mestre.

Então, Mizque, outro discípulo, o interpelou:

- Mestre, uma vez disseste a Yuyari que a sabedoria consiste em amar aos homens. E agora respondes

a Pirgue que a sabedoria consiste em conhecer os homens.

Calou-se o discípulo e o Mestre o animou:

- Prossegue, por que te deténs?

- Mestre, continuou ele, quero saber afinal em que consiste a sabedoria.

Respondeu-lhe Pacaric:

- A sabedoria consiste em amar aos homens apesar de conhecê-los.

(Texto extraído da obra, Oaska, O Evangelho da Rosa,  
Campinas, Sama Editora)

## SUMÁRIO

Introdução.....	01
1. Revisão da Literatura.....	05
1.1. Histórico.....	06
1.2. As principais vertentes e as cerimônias.....	08
1.3. Botânica e fitoquímica dos constituintes da ayahuasca.....	10
1.4. Farmacocinética dos alcalóides da ayahuasca.....	17
1.5. Farmacodinâmica dos alcalóides da ayahuasca.....	21
1.6. Principais efeitos da ayahuasca.....	25
1.7. Aspectos toxicológicos.....	28
2. Objetivos .....	32
3. Material e Métodos.....	34
3.1. Materiais.....	35
3.1.1. Reagentes .....	35
3.1.2. Equipamentos e acessórios.....	35
3.1.3. Padrões e soluções-padrão.....	36
3.1.4. Exsicata das plantas componentes da ayahuasca.....	36
3.2. Métodos.....	40
3.2.1. Síntese da tetraidro-harmina (THH).....	40
3.2.2. Síntese da <i>N-N</i> -dimetiltriptamina (DMT).....	41
3.2.3. Síntese da dimetiltriptamina deuterada (DMT-D6).....	42
3.2.4. Desenvolvimento de método para determinação dos alcalóides no chá.....	43
3.2.4.1. Extração dos alcalóides do chá por SPE.....	43
3.2.5. Desenvolvimento de método para determinação dos alcalóides em plasma por LC-MS .....	44
3.2.5.1. Otimização do método.....	44
3.2.5.2. Validação analítica do método.....	45
3.2.5.2.1. Limite de detecção e quantificação.....	45
3.2.5.2.2. Recuperação.....	46
3.2.5.2.3. Linearidade.....	46
3.2.5.2.4. Precisão Intra e Interensaio.....	47

3.2.5.2.5.	Exatidão.....	47
3.2.6.	Ética.....	47
3.2.7.	Coleta das amostras de plasma.....	47
3.2.8.	Coleta de sangue após ingestão da ayahuasca.....	48
4.	Resultados.....	50
4.1.	Síntese da tetraidro-harmina (THH).....	51
4.2.	Síntese da <i>N,N</i> -dimetiltriptamina (DMT).....	53
4.3.	Extração por SPE.....	54
4.4.	Validação do método no chá.....	55
4.5.	Validação da otimização do método para detecção dos alcalóides no plasma.....	56
4.6.	Análise dos efeitos subjetivos.....	58
5.	Discussão.....	60
6.	Conclusão.....	74
7.	Referências Bibliográficas.....	76

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Estruturas químicas dos principais alcalóides presentes na ayahuasca: dimetiltriptamina, harmina, harmalina, tetraidro-harmina e do neurotransmissor serotonina.....	11
<b>Figura 2.</b> Reação de biossíntese da dimetiltriptamina (DMT) a partir do triptofano sob a ação das enzimas catalisadoras aminoácido aromático descarboxilase (AADC) e indoletilamina-N-metiltransferase (INMT).....	13
<b>Figura 3.</b> Ilustração de folhas da <i>Psychotria</i> .....	14
<b>Figura 4.</b> Ilustração do caule da <i>Banisteriopsis</i> .....	15
<b>Figura 5.</b> Metabolização da dimetiltriptamina (DMT) pela enzima monoaminoxidase-A (MAO-A) com a formação do sub-produto ácido 3-indolacético.....	19
<b>Figura 6.</b> Fotos para identificação e registro da exsicata da <i>Banisteriopsis</i> .....	37
<b>Figura 7.</b> Fotos para identificação e registro da exsicata da <i>Psychotria</i> .....	37
<b>Figura 8.</b> Síntese da tetraidro-harmina (THH) a partir da harmalina (HRL) submetida à ação de agente redutor tetraborohidreto de sódio ( $\text{NaBH}_4$ ).....	40
<b>Figura 9.</b> Síntese da dimetiltriptamina (DMT) a partir da triptamina e submetida à ação de agente redutor tetraborohidreto de sódio ( $\text{NaBH}_4$ ), banho de gelo, sob agitação constante.....	41
<b>Figura 10.</b> Síntese da dimetiltriptamina deuterada (DMT-D6) a partir da dimetiltriptamina (DMT) utilizando agente redutor deuterado ( $\text{NaBD}_4$ ).....	42
<b>Figura 11.</b> Esquema das etapas extrativas da extração dos principais alcalóides no chá: dimetiltriptamina (DMT), tetraidro-harmina (THH), harmalina (HRL) e harmina (HRM) através de extração em fase sólida (SPE) e equipamento de cromatografia gasosa com detector de nitrogênio e fósforo (GC-NPD).....	43
<b>Figura 12.</b> (A) Perfil cromatográfico da injeção de solução de tetraidro-harmina (THH) sintetizada e purificada. (B) Espectro de massa obtido.....	51
<b>Figura 13.</b> Espectro de NMR $^1\text{H}$ do produto formado tetraidro-harmina (THH).....	52
<b>Figura 14.</b> Espectro de NMR $^1\text{H}$ do produto formado dimetiltriptamina (DMT).....	53
<b>Figura 15.</b> Perfil cromatográfico de injeção direta dos padrões da ayahuasca (1) dimetiltriptamina; (2) difenidramina; (3) tetraidro-harmina; (4) harmalina; (5) harmina e (6) clomipramina, através da injeção em equipamento de cromatografia	

- em fase gasosa equipado com detector de nitrogênio e fósforo (GC-NPD)..... 54
- Figura 16.** Perfil cromatográfico de amostra de ayahuasca submetido ao método de extração em fase sólida (1) dimetiltryptamina; (2) difenidramina; (3) tetraidro-harmina; (4) harmalina; (5) harmina e (6) clomipramina, através da injeção em equipamento de cromatografia em fase gasosa equipado com detector de nitrogênio e fósforo (GC-NPD)..... 55
- Figura 17.** Perfil cromatográfico de amostra de plasma adicionado dos padrões submetido ao método de extração em fase sólida – LC-MS. (A) dimetiltryptamina (DMT); (B) tetraidro-harmina (THH); (C) harmalina (HRL); (D) harmina (HRM)..... 58
- Figura 18.** Síntese da  $\beta$ -carbolinas deuteradas: harmina (HRM); harmalina (HRL) e tetraidro-harmina (THH), sob a ação de agente redutor deuterado ( $\text{NaBD}_4$ )..... 65
- Figura 19.** Estruturas químicas das substâncias avaliadas como padrão interno: (A) imipramina; (B) loimbina; (C) difenidramina e (D) clomipramina..... 66
- Figura 20.** Cromatograma GC-MS obtido com a injeção direta dos principais alcalóides da ayahuasca: (A) dimetiltryptamina; (B) tetraidro-harmina; (C) harmalina; (D) harmina..... 70

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Teores dos principais alcalóides presentes na ayahuasca: dimetilriptamina (DMT); tetraidro-harmina (THH); harmalina (HRL) e harmina (HRM), obtidos por diferentes pesquisadores em trabalhos distintos.....	<b>16</b>
<b>Tabela 2.</b> Resultados farmacocinéticos de concentrações dos principais parâmetros farmacocinéticos: concentração máxima (Cmax), tempo de meia vida (T1/2) e tempo máximo (Tmax) dos principais alcalóides da ayahuasca presentes no plasma: dimetilriptamina (DMT); tetraidro-harmina (THH); harmalina (HRL) e harmina (HRM).....	<b>18</b>
<b>Tabela 3.</b> Correlação entre doses de dimetilriptamina (DMT) x harmina (HRM) x efeitos observados através da ingestão de cápsulas de farmahuasca, cápsulas previamente preparadas em concentrações conhecidas e desejadas.....	<b>20</b>
<b>Tabela 4.</b> Informações de registro da exsicata de <i>Banisteriopsis caapi</i> .....	<b>38</b>
<b>Tabela 5.</b> Informações de registro de exsicata de <i>Psychotria viridis</i> .....	<b>39</b>
<b>Tabela 6.</b> Tempos de coleta das amostras de sangue de dois voluntários do sexo masculino.....	<b>49</b>
<b>Tabela 7.</b> Resultados dos parâmetros de validação do método para determinação dos principais alcalóides em amostras de ayahuasca: dimetilriptamina (DMT); harmina (HRM); harmalina (HRL) e tetraidro-harmina (THH).....	<b>56</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS

5HT	5-hidroxitriptamina (serotonina)
5-Meo-DMT	5-metoxidimetiltriptamina
5-MeO-DMT	5-metoxi-dimetiltriptamina
5-OH-DMT	Bufotenina
AADC	Enzima aminoácido aromático descarboxilase
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATP	Trifosfato de adenosina
CCD	Cromatografia em camada delgada
CEFLURIS	Centro eclético fonte luz universal Raimundo Irineu Serra
CONAD	Conselho Nacional Antidrogas
CQ	Controle de qualidade
CV	Coeficiente de variação
DET e T9	<i>N,N</i> -dietiltriptamina
DL50	Dose letal 50
DMT	<i>N,N</i> -dimetiltriptamina
DMT-D6	<i>N,N</i> -dimetiltriptamina deuterada
DOM	2,5 dimetoxi-4-metilanfetamina
EI	Ionização por impacto de elétrons
ESI	Ionização por eletrospray
ESI-MS	Ionização por eletrospray acoplado espectrometria de massas
GC-MS	Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas
GC-NPD	Cromatografia gasosa com detector de nitrogênio e fósforo
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
HRL	Harmalina
HRM	Harmina
I-MAO	Inibidores monoaminoxidase
INMT	Indometilamina-N-metiltransferase
IP3	Trifosfato de inositol
LC-MS	Cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas
LLE	Extração líquido-líquido
LOD	Limite de detecção

LOQ	Limite de quantificação
LPME	Micro extração em fase líquida
LSD	Ácido lisérgico
MAO	Monoaminoxidase
NMR	Ressonância magnética nuclear
PDMS	Polidimetilsiloxano
SNC	Sistema nervoso central
SPE	Extração em fase sólida
SPME	Micro extração em fase sólida
TA	Aminas traço
THH	Tetraidro-harmina
TLC	Cromatografia bidimensional em camada fina
TMS	Tetratrimetilsilano
UDV	União do vegetal



## ANEXOS

ANEXO I – Carta de aprovação do Comitê de Ética.....	88
ANEXO II – Carta de aceite da Unidade Mista de Saúde de Capela do Alto.....	89
ANEXO III – Artigo de revisão submetido à publicação na Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada.....	90
ANEXO IV – Artigo publicado <i>Phytochemical Analysis</i> .....	126
ANEXO V – Informações para os membros de bancas julgadoras de Mestrado e Doutorado.....	131
ANEXO VI – Ficha do Aluno.....	132

PIRES, A.P.S.; **Estudos de farmacocinética dos alcalóides da ayahuasca** 2009. 135 p. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, Brasil, 2009.

## RESUMO

O uso de substâncias alucinógenas há muito tempo é alvo de discussões, em virtude do grande número de adeptos que possui e das conseqüências que pode acarretar ao indivíduo e ao complexo contexto social no qual ele se enquadra na sociedade. Dentro desse panorama vem se destacando a utilização de uma bebida denominada ayahuasca, preparada pela infusão de plantas nativas da região da Bacia Amazônica, originariamente utilizada por indígenas em rituais xamânicos. A ayahuasca combina a ação alucinogênica da dimetiltriptamina (DMT), um agonista serotoninérgico de receptores 5-HT<sub>2A/2C</sub> com β-carbolinas, que são inibidoras da monoaminoxidase-A (MAO-A). Com o aumento do consumo dessa bebida em cerimônias de alguns movimentos sincréticos religiosos do Brasil como o Santo Daime e a União do Vegetal (UDV), recentemente teve seu uso para esse fim regulamentado e aprovado pela legislação brasileira. Nos últimos anos, esses grupos religiosos têm se espalhado na Europa e Estados Unidos, chamando a atenção de pesquisadores internacionais quanto aos efeitos da ayahuasca. Entretanto, relativamente poucas investigações tem sido realizadas, inclusive dos aspectos básicos como os estudos farmacocinéticos de seus princípios ativos em humanos. Da mesma forma, métodos analíticos para determinação dos principais alcalóides na bebida e em amostras biológicas também são escassos na literatura científica. No presente trabalho, será realizado um estudo farmacocinético dos alcalóides da ayahuasca. Para tanto, um método utilizando cromatografia em fase gasosa com detector de nitrogênio-fósforo (GC-NPD) para determinação simultânea de DMT e β-carbolinas em ayahuasca foi desenvolvido e validado. O método para quantificação em plasma é de fundamental importância para determinação das concentrações dos alcalóides nessa matriz e comparação dos níveis no plasma e os efeitos observados nos voluntários que ingeriram a bebida.

**Palavras-chave.** Ayahuasca. Cromatografia Gasosa. Daime. Dimetiltriptamina. β-carbolinas.

PIRES, A.P.S.; **Pharmacokinetic studies of ayahuasca alkaloids** 2009. 135 p. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, Brasil, 2009.

## ABSTRACT

The use of hallucinogenic substances has long been a matter of debate, due to the large number of supporters and has consequences that can result in the individual and the complex social context in which it fits into society. In this view has been increasing the use of a drink called ayahuasca, prepared by the infusion of plants native to the Amazon Basin region, originally used by indigenous people in shamanic rituals. Ayahuasca combines the action of hallucinogenic dimethyltryptamine (DMT), a serotonin receptor agonist 5-HT<sub>2A/2C</sub> with  $\beta$ -carboline, which are inhibitors of monoamine oxidase A (MAO-A). With the increased consumption of this drink in ceremonies of some syncretic religious movements in Brazil and the Santo Daime and União do Vegetal (UDV), recently had its use for that purpose is regulated and approved by the Brazilian legislation. In recent years, these religious groups have spread in Europe and the United States, calling the attention of international researchers on the effects of ayahuasca. However, relatively little research has been carried out, including the basics such as pharmacokinetic studies of its active compounds in humans. Similarly, analytical methods for determination of major alkaloids in drink and in biological samples are also rare in the literature. In this work, a detailed pharmacokinetic study of ayahuasca alkaloids. Therefore, a method using gas chromatography with nitrogen detector-phosphorus (GC-NPD) for the simultaneous determination of DMT and  $\beta$ -carboline in ayahuasca was developed and validated. The method for quantification in plasma is of fundamental importance for determining the concentrations of alkaloids in the array and comparing the levels in plasma and the effects observed in volunteers who ingested the drink.

**Keywords.** Ayahuasca. Gas Chromatography. Daime. Dimethyltryptamine.  $\beta$ -carboline.

# INTRODUÇÃO

## INTRODUÇÃO

Ayahuasca é uma palavra que na língua quéchuá significa *aya* – “alma”, “morto”, “espírito” e *waska* – “corda”, “vinho” e pode ser traduzida como “vinho das almas” ou “vinho dos mortos” (GOULART, 2004). Entre as outras denominações mais comuns estão *caapi*, *yagé*, *natem*, *mariri*, *mihi* e *dapai* (MCKENNA, 2004; SANTOS, 2007; FRECSKA, 2008). A ayahuasca nada mais é do que a decoção de duas plantas: *Banisteriopsis caapi* e *Psychotria viridis*. Os cipós da *B. caapi*, popularmente conhecida como *mariri*, são ricos em  $\beta$ -carbolinas: *harmina* (HRM), *harmalina* (HRL) e *tetraidro-harmina* (THH), que são inibidoras da enzima *monoaminoxidase* (MAO). As folhas da *P. viridis* são ricas em *N,N*-dimetilriptamina (DMT), que possui propriedades alucinógenas. Em condições normais, a DMT é rapidamente metabolizada pela MAO, mas como essa se encontra inibida pelas  $\beta$ -carbolinas, a degradação da DMT é bloqueada e a mesma consegue agir livremente, possibilitando aos usuários da mistura, “viagens multicoloridas”, com visões dos mais diversos tipos (CALLAWAY, 1998), que serão posteriormente discutidas.

Anahuasca, sinônimo de análogos da ayahuasca, consiste no uso de plantas de diferentes espécies, fontes de triptaminas e  $\beta$ -carbolinas não tradicionais. Há mais de 100 espécies que contém  $\beta$ -carbolinas simples, sendo que destas, no mínimo 70 espécies contém inibidores da MAO. Com relação às triptaminas, mais de 60 espécies são fontes de DMT e/ou 5 MeO-DMT (SMITH, 1998; OTT, 1999), assim sendo, existem centenas de formas de combinar as diferentes espécies tendo como resultado final o efeito ayahuasca. A ayahuasca é utilizada por mais de 70 tribos indígenas da América do Sul, incluindo vários países: Brasil, Peru, Bolívia, Colômbia, Equador, Venezuela, apenas para citar alguns (OTT, 1999; SANTOS, 2007).

No Brasil, com o passar dos anos, o consumo dessas bebidas deixaram de ser prática exclusiva dos rituais indígenas para se expandir para os centros urbanos, na forma de seitas religiosas. Entre elas se destacam: *Daime* ou *Santo Daime*, *União do Vegetal*, *Barquinha* e alguns grupos religiosos denominados gnósticos. Ao contrário do que ocorre nas comunidades indígenas, onde apenas um pequeno percentual dos indivíduos consome a bebida regularmente, os grupos religiosos têm como base de suas reuniões o consumo regular por todos os membros da comunidade, dentro do contexto cerimonial (CALLAWAY, 1999).

A difusão desses grupos não só pelo Brasil, mas também para outros países como Estados Unidos, Alemanha, Inglaterra, França, Espanha, tem despertado a atenção do mundo para essa nova prática (RIBA *et al.*, 2003).

No dia 04 de novembro de 2004, através da Resolução nº 4 do CONAD – Conselho Nacional Antidrogas, o uso da ayahuasca para fins religiosos foi reconhecido como legítimo (CONSELHO NACIONAL ANTIDROGAS, 2004). De fato, o Brasil é o único país a reconhecer a ayahuasca para fins religiosos, a exemplo do que ocorre com o peyote, que é um cacto livremente consumido nos cultos da *Nature Church American* nos Estados Unidos e Canadá (RIBA *et al.*, 2001).

Além do aumento do consumo da ayahuasca dentro do contexto cerimonial, também se tem observado o aumento de seu consumo a nível recreacional, inclusive com o crescimento do fenômeno denominado “Turismo Ayahuasca” no Amazonas (MCKENNA, 2004). Embora o consumo da ayahuasca só seja permitido dentro do contexto religioso, as duas plantas originais: *B. caapi* e *P. viridis*, que servem para seu preparo, não figuram nas listas de substâncias controladas, sendo possível inclusive adquiri-las através da internet e outras fontes.

Frente ao grande aumento na popularidade da ayahuasca e sua disseminação em todo o mundo, ainda são relativamente poucos os estudos esclarecedores de seus vários aspectos. O misticismo que envolve suas raízes e as sensações narradas por viajantes estrangeiros na Bacia do Amazonas só tem contribuído para despertar a imaginação das pessoas, que ficam sedentas dessa nova experiência (MCKENNA, 2004).

Do ponto de vista toxicológico, os estudos existentes ainda não são suficientes para se descartar a possibilidade de efeitos nocivos aos usuários, principalmente levando-se em conta que entre estes estão crianças, grávidas e pessoas idosas; que constituem grupos a parte, em virtude da idade ou mesmo das condições físicas em que se encontram. O fenômeno de tolerância pode ser observado após seu uso regular, porém não tem sido constatado potencial de causar dependência. Ao contrário, possíveis aplicações terapêuticas têm sido sugeridas, sendo que a ayahuasca tem sido utilizada como adjunto no tratamento da

dependência ao álcool, outras drogas de abuso, tratamento de cânceres e outras desordens (GROB *et al.*, 1996; MCKENNA *et al.*, 2004, TOOPING, 1998).

Apesar do crescente interesse científico pela ayahuasca, relativamente poucos trabalhos foram conduzidos neste sentido, inclusive de aspectos básicos como estudos de farmacocinética de seus alcalóides. Da mesma forma, poucos métodos analíticos para determinação dos alcalóides da ayahuasca na bebida e mesmo em amostras biológicas foram publicados na literatura.

Através desse trabalho foi desenvolvido e validado método para determinação simultânea dos alcalóides na bebida, até então inexistente. Também procurou-se desenvolver um método para quantificação das  $\beta$ -carbolinas e da DMT em plasma pela técnica de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa (LC-MS). Para a elaboração desse trabalho, considerou-se o plasma como espécime biológico em virtude de se relacionar os efeitos alucinógenos máximos da bebida com suas respectivas concentrações de analitos no sangue. Em estudos futuros, nos quais se pretenda apenas identificar o consumo da bebida, será de grande valia o desenvolvimento de trabalhos utilizando outras matrizes biológicas, tais como urina, cabelo, etc.

Após o desenvolvimento e validação do método pretende-se coletar amostras de sangue de voluntários com experiência pregressa do uso da ayahuasca, no decorrer do rito religioso, para se determinar alguns parâmetros farmacocinéticos como concentração plasmática máxima ( $C_{max}$ ), tempo que ocorreu  $C_{max}$  e meia-vida de eliminação sangüínea ( $T_{1/2}$ ).

# REVISÃO DA LITERATURA



# 1. REVISÃO DA LITERATURA

## 1.1. HISTÓRICO

O hábito de se consumir plantas que possuem a capacidade de modificar o senso da realidade e alterar os estados de percepção são tão antigos que se confundem com o próprio início da civilização. No caso da ayahuasca, os primeiros registros dizem respeito a populações indígenas da floresta amazônica, curandeiros e xamãs nos Andes, tribos no Equador, Venezuela, Colômbia e Peru e também os seringueiros no norte do Brasil (LABATE & ARAÚJO, 2004).

No Brasil, o ciclo da borracha teve seu centro na região amazônica, sendo que seu auge girou em torno dos anos de 1879 a 1912. Proporcionou grande expansão da colonização, provocando transformações sócio-culturais e servindo de estopim para o desenvolvimento de grandes cidades na região. Consistia na extração do látex a partir da madeira da *Hevea brasiliensis*, popularmente conhecida como seringueira. No entanto, por volta de 1912 chegava ao fim o monopólio de extração na Amazônia em virtude da concorrência das plantações inglesas na Malásia, Ceilão e África, com sementes oriundas da própria Amazônia, porém produzidas com maior eficiência e produtividade, não tardando aos ingleses a assumirem o controle mundial da comercialização do produto (CHAUI, 2000).

Em contrapartida, centenas de seringueiros, desprovidos da renda da extração, ou fixaram-se na periferia das cidades ou migraram para estados vizinhos em busca de melhores condições de vida. Os seringueiros, durante suas atividades extrativistas, entraram em contato com tribos indígenas xamânicas em diversas ocasiões, onde desenvolveram o hábito de consumo da ayahuasca (CEMIN, 1998).

Na década de 1930, intensificava-se no Brasil o processo de urbanização, sendo observadas mudanças significativas nos padrões de conduta entre trabalhadores e patrões, através de contratos trabalhistas, na interface social, bem como mudanças nas condutas morais e religiosas que fundamentavam a antiga sociedade rural brasileira (GOULART, 2004).

Em 1930, em Rio Branco, capital do Acre, Raimundo Irineu Serra, ex-seringueiro, migrante do Maranhão e conhecido “curador” iniciava um culto com uma

comunidade que possuía como ponto básico a ingestão da bebida denominada Santo Daime, que, mais tarde, daria também origem ao nome da religião. A origem da palavra vem do verbo “dar” mais o pronome “me”, como uma rogação: “dai-me força”, “dai-me luz”, “dai-me saúde”, etc. (GOULART, 2004).

No entanto, se o nome Santo Daime é apenas mais um termo para identificar a bebida, o culto daimista seria o marco rompedor da antiga tradição de consumo da bebida sem contexto por parte das tribos indígenas por uma nova forma, contextualizada e bem definida, com objetivos e regras estipuladas (GOULART, 2004).

Em 1945, Frei Daniel Pereira de Mattos viria a fundar a Barquinha, também no Acre e na década de 1960, através do “mestre” José Gabriel da Costa, forma-se a União do Vegetal (UDV) em Porto Velho, Rondônia. Na década de 1970 surge o Santo Daime, que pode servir para identificar dois grupos: Alto Santo e o Centro Eclético da Fluente Luz Universal Raimundo Irineu Serra, o CEFLURIS. O CEFLURIS e o Alto Santo ou simplesmente Santo Daime afirmam seguir os ensinamentos de mestre Irineu e se auto-designam como Santo Daime. Embora existam diferenças e alguns conflitos entre as duas vertentes, podem ser classificados como compondo um único grupo (LABATE & ARAUJO, 2004).

A partir do final da década de 1970 e 1980, a UDV e o Santo Daime, respectivamente começam a se expandir pelos grandes centros urbanos do sudeste do país e mais recentemente também no exterior (Estados Unidos, Espanha, Holanda, Japão, entre outros). A Barquinha permanece quase exclusivamente restrita ao Acre, seu estado de origem (LABATE & ARAUJO, 2004).

É importante lembrar que, se por um lado as três principais vertentes tem em comum o fato de pertencerem a uma mesma tradição – a da religiosidade não-indígena de consumo da ayahuasca no Brasil, por outro lado, cada uma delas possui diferenças significativas entre si, o que veio a originar cisões em relação aos grupos originais (LABATE & ARAUJO, 2004). No entanto, se por um lado o marco inicial do consumo da bebida não pode ser bem definido, o que se tem bem claro é que seus usuários não tinham nenhuma explicação científica e nem mesmo nenhuma idéia que justificasse o seu mecanismo de ação.

A explicação do mecanismo de ação da ayahuasca foi, sem dúvida, uma descoberta no mínimo brilhante. Que a combinação surtira resultados alucinógenos desde o início do século passado ninguém duvidava, mas, não se sabia a razão desta associação produzir efeitos potencialmente mais significativos do que a ingestão isolada. Em 1967 Holmstead e Lindgreen aventaram a hipótese que viria a ser conhecida como "efeito ayahuasca", de que os efeitos visionários dos rapés sul americanos deviam-se a presença simultânea de  $\beta$ -carbolinas (inibidoras da MAO) juntamente com as triptaminas metabolizadas pela MAO, resultando assim na exacerbação dos efeitos das triptaminas (OTT, 1999).

## 1.2. AS PRINCIPAIS VERTENTES E AS CERIMÔNIAS

Os diversos grupos religiosos que se iniciaram têm influência do catolicismo europeu, religiões africanas e espiritismo, associados a conhecimentos botânicos de pajés de diversas tribos indígenas formando um sincretismo religioso (LABATE & ARAUJO, 2004).

Como descrito anteriormente, no Brasil, as três principais seitas que existem são Alto Santo e CEFLURIS, cognominados Santo Daime, UDV - União do Vegetal e Barquinha. Cada uma delas possui particularidades próprias que acabam por diferenciá-las justificando a cisão, no entanto, o preparo do chá, a cerimônia e as regras para adesão dos membros são bastante similares (FRANCO & CONCEIÇÃO, 2004).

Para as cerimônias realizadas pelos seringueiros da Amazônia, a ayahuasca não pode ser preparada por qualquer pessoa. Os responsáveis pelo seu preparo devem já ter adquirido conhecimentos da ciência da produção e ter obtido, em "miração" (estado visionário produzido pela ingestão da bebida), permissão para fazê-lo. Tendo obtido essa permissão divina, o primeiro passo é encontrar um pé de *Banisteriopsis caapi* (cipó – planta macho) que o preparador ache que está compatível. Esse processo pode levar horas ou dias, pois o pé de cipó escolhido pode estar próximo ou distante. A seguir é necessário coletar as folhas da chacrona ou rainha - (planta fêmea). É preciso ter cuidado, pois nem todas as folhas são adequadas: as chamadas folhas frias, mesmo pertencendo ao grupo da chacrona,

não são consideradas boas para se preparar a ayahuasca, pois sendo de outra espécie, devem ser separadas das demais. A seguir, o cipó deverá ser batido com um porrete de madeira, separando ou não o miolo da casca, o que ocasionará sabores diferentes quando da ingestão do chá. Esse processo é realizado pelos homens enquanto os mesmos entoam cânticos. O próximo passo é a triagem das folhas “machucadas”, conservando as sadias, que serão utilizadas no preparo do chá. Essa etapa é realizada pelas mulheres, que também entoam cânticos enquanto o fazem. Batido o cipó e escolhidas as folhas, ambos serão reunidos numa importante etapa que é a fervura. Conhecimentos como quantidade de folha, de cipó, de água, tempo de fervura, temperatura adequada do fogo e até mesmo a melhor madeira para a lenha são conhecimentos essenciais no processo (FRANCO & CONCEIÇÃO, 2004).

Qualquer pessoa pode se tornar adepta. Homens, mulheres, crianças, idosos, grávidas, não há restrição alguma de sexo ou idade para ingestão do chá.

Os grupos Alto Santo e CEFLURIS preservam o caráter sagrado da festa e da dança oriundos do catolicismo popular, sendo que são divindades Deus, Jesus, a virgem Maria, os santos católicos, entidades oriundas do universo afro-brasileiro e seres da natureza (sol, lua, estrela). O núcleo do ritual consiste em entoar coletivamente os hinos e dançar o bailado alternado com períodos de silêncio e meditação. O calendário de “trabalhos”, forma pela qual é conhecida a cerimônia, ocorre em datas pré-determinadas por cada grupo, geralmente duas vezes no mês e em vésperas ou no próprio dia de diversos santos diferentes conforme a seita. Existem missas especiais para os mortos e também missas de cura. A principal diferença entre o Alto Santo e o CEFLURIS, diz respeito à possessão, permissão para incorporar entidades, fruto da influência umbandista, que vem sendo amplamente aceita pelo CEFLURIS e é totalmente proibida no Alto Santo (LABATE & ARAUJO, 2004). Sempre haverá um ou mais responsáveis pela distribuição da bebida a todos os presentes. Essa pessoa deverá zelar para que o trabalho transcorra em paz. No final do ritual ocorrem as orações “Pai Nosso” e “Ave Maria”. Também há um espaço para que os presentes se assim o desejarem manifestem sua experiência daquele dia com relação ao trabalho. Um lanche ou refeição encerra a noite de comunhão (FRANCO & CONCEIÇÃO, 2004).

A Barquinha é por sua vez a linha mais eclética das três religiões e sem dúvida a que possui maior influência da umbanda. Nas cerimônias, após a ingestão do chá ocorrem as incorporações de entidades espirituais que expressam os três planos cosmológicos: o astral, a terra e o mar. A Barca representa a missão deixada por Frei Daniel e também a viagem de cada indivíduo dentro da trajetória de vida de cada um. O calendário das atividades é o mais extenso e a diversidade dos trabalhos a mais ampla, não sendo raro o consumo da bebida quatro vezes por semana (LABATE & ARAUJO, 2004).

A União do Vegetal possui em comparação aos demais, um ambiente despojado de signos religiosos populares, tais como velas, imagens de santos, etc. Mais do que devoção, hinos ou preces, o trabalho está voltado para a concentração mental. Possui forte relação com o espiritismo *kardecista*, através de conceitos como evolução espiritual, reencarnação e busca do estado de perfeição do espírito. Possuem influência cristã, porém menos evidente, sendo que as figuras de Jesus Cristo e Virgem Nossa Senhora possuem lugar de destaque. Durante os trabalhos, existe uma série de histórias, parábolas, que foram deixadas pelos fundadores e que trazem personagens tais como Iemanjá, Salomão, Samaúma (LABATE & ARAUJO, 2004).

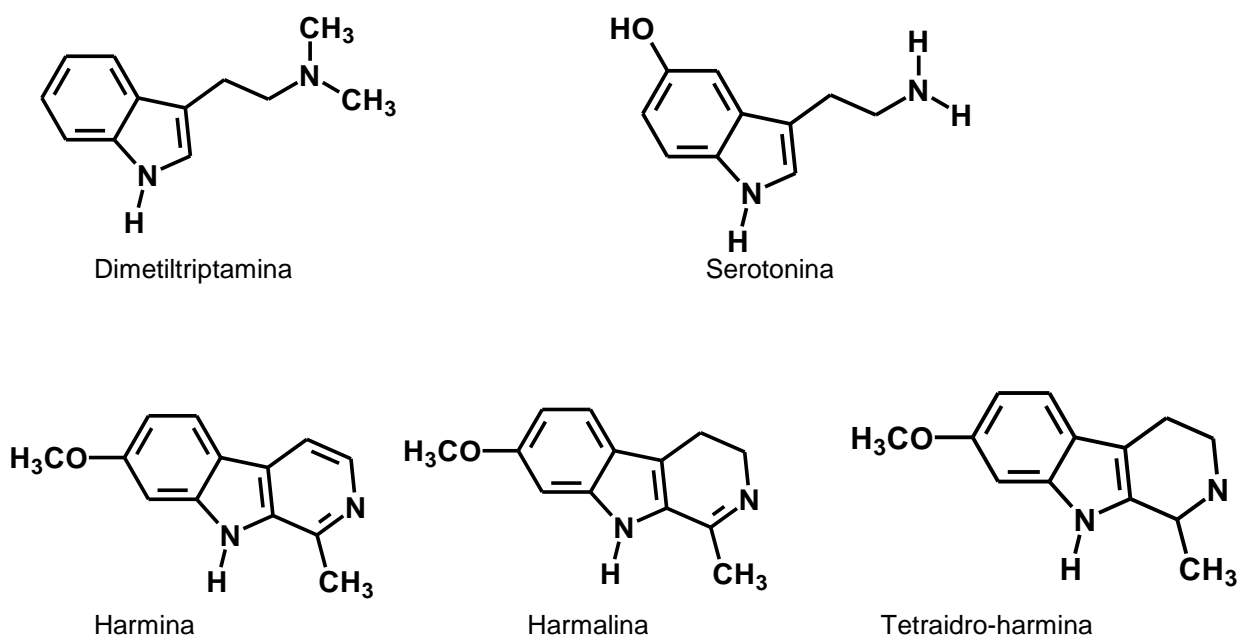
É interessante observar que a grande maioria dos membros da UDV possui melhor nível de educação e classe social em relação aos membros das demais vertentes. Dos 7000 membros da UDV, em torno de 10% são médicos de diferentes especialidades. Esses profissionais têm interesse profundo no conhecimento científico da ayahuasca, simultaneamente nutrindo dedicada devoção espiritual (MCKENNA, 2004).

### **1.3. BOTÂNICA E FITOQUÍMICA DOS CONSTITUINTES DA AYAHUASCA**

A combinação mais comum para o preparo da ayahuasca é, sem dúvida, a associação da *Banisteriopsis caapi* (cipó) com a *Psychotria viridis* (chacrona). No entanto, ela também pode ser preparada com a *Banisteriopsis muricata*, com a *Diplopterys cabrerana* ou com a *Psychotria cartagenensis* (OTT, 1999; MACKENNA, 1984).

Através da fervura da casca da *Banisteriopsis caapi* em conjunto com as folhas da *Psychotria viridis*, obtém-se a bebida denominada ayahuasca. A *B. caapi*, é um cipó ou parreira gigante pertencente à família Malpighiaceae e é nativa das zonas tropicais da América do Sul e Antilhas. A *B. caapi* possui alcalóides  $\beta$ -carbolinas que são potentes inibidores reversíveis da MAO-A. As principais  $\beta$ -carbolinas são harmina (HRM), também conhecida como telepatina; harmalina (HRL) e tetraidro-harmina (THH) (CALLAWAY, 1998).

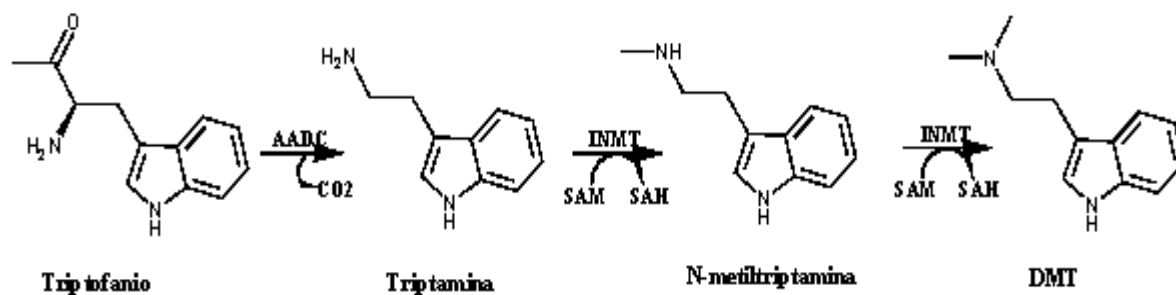
Em 2005, CALLAWAY *et al.* através de análise de 33 amostras de *B. caapi* e 37 amostras de *P. viridis*, obtiveram 7,50 mg/g de DMT; 1,0 mg/g de THH; 0,46 mg/g de HRL e 4,83 mg/g de HRM como valores médios dos teores de alcalóides presentes nas plantas. As estruturas químicas dos principais alcalóides presentes na ayahuasca e do neurotransmissor serotonina, muito similar quimicamente a DMT, podem ser observados na Figura 1 (CALLAWAY, 2005b).



**FIGURA 1** - Estruturas químicas dos principais alcalóides presentes na ayahuasca: dimetiltriptamina, harmina, harmalina e tetraidro-harmina e do neurotransmissor serotonina (5-hidroxitriptamina)

As aminas indólicas psicoativas *N,N*-dimetiltriptamina (DMT), bufotenina (5-OH-DMT) e 5-metoxi-dimetiltriptamina (5-MeO-DMT) são constituintes de rapés e chás e estão presentes em diferentes espécies que crescem em várias regiões da América. Nos Estados Unidos, concentrações apreciáveis de DMT são encontradas em extratos de *Phalaris* (*Phalaris arundinacea*, *Phalaris tuberosa* e *Phalaris aquatica*, está última encontrada também no Canadá). Estas espécies são muito utilizadas para elucidação da biogênese das indolalquilaminas e são geralmente encontradas em campos sem cultivo e em calçadas rachadas. Há muitas outras fontes botânicas de DMT na região da América do Sul. Podem ser extraídas de sementes de *Anadenanthera peregrina* ou de cascas de caules de *Virola spp.* *Piptadenia*, *Mimosa hostilis*, *Lespedeza bicolor*, *Diplopterys cabrerana* (*syn. Banisteriopsis rusbyana*) e *Psychotria viridis*. A *Desmanthus illinoensis* também possui DMT em suas raízes (THOMPSON *et al.*, 1987).

Embora a sua função nos organismos não esteja perfeitamente determinada, a partir de 1970 quando se descobriu a síntese endógena da DMT, ela passou a ser estudada intensamente. O que se tem conhecimento atualmente é que sua síntese se dá a partir do aminoácido triptofano, através de duas reações químicas distintas. A primeira reação é de descarboxilação do aminoácido catalisada pela enzima aminoácido aromático descarboxilase (AADC) que resulta na formação de triptamina, que é então monometilada graças à ação da enzima indoletilamina-N-metiltransferase, que promove a transferência de um grupamento metil proveniente de S-adenosilmetionina. Essa mesma reação ocorre novamente, e faz com que um grupamento metil seja introduzido à N-Metiltriptamina, gerando a DMT, como pode ser observado na Figura 2 (GOMES, 2008).



**FIGURA 2** - Reação de biossíntese da dimetiltriptamina (DMT) a partir do triptofano, sob ação das enzimas catalisadoras aminoácido aromático descarboxilase (AADC) e indoletilamina-N-metiltransferase (INMT)

Para se avaliar a produção de alcalóides pelas plantas é importante observar as flutuações que ocorrem através do ciclo circadiano. No caso da *P. viridis* as flutuações na produção de DMT são evidentes. A razão disso ainda não está definida, mas aventa-se a possibilidade do DMT apresentar ação protetora à radiação solar, visto que o aumento da sua biossíntese ocorre nas horas mais quentes do dia. Outra hipótese seria que a DMT seja capaz de absorver radiação solar, preservando a planta (CALLAWAY, 2005b).

O gênero *Psychotria* engloba arbustos e pequenas árvores encontradas em regiões tropicais de todo o mundo (incluindo cerca de 1.400 espécies), sendo sua taxonomia um pouco complexa. A *P. viridis* pertence à família Rubiaceae e também é conhecida como chacrona ou rainha. As folhas da *Psychotria* podem ser visualizadas na Figura 3. Contém *N,N*-dimetiltriptamina (DMT) como principal alcalóide e também pequenos índices de *N*-metiltetraidro- $\beta$ -carbolina (MCKENNA, 2004). As concentrações de  $\beta$ -carbolinas encontradas na *B. caapi* variam de 0,05% a 1,95% de peso seco, enquanto na *P. viridis*, as concentrações de alcalóides estão na faixa de 0,10 a 0,66% de peso seco (MCKENNA, 1984; MCKENNA, 2004). Na bebida ayahuasca, os teores de agentes psicoativos são maiores do que aqueles encontrados nas plantas das quais ela é preparada.





**FIGURA 3:** Ilustração de folhas da *Psychotria*

De acordo com membros da UDV, há duas diferentes variedades de *B. caapi*: *mariri caupuri*, que cresce próximo ao Equador e *mariri tucunacá*, que cresce em climas frios do sul do Brasil. Embora do ponto de vista botânico sejam a mesma planta, parece proporcionar sensações diferentes no corpo e mente dos usuários do chá (CALLAWAY, 2005b). Na Figura 4 é possível visualizar uma foto do caule de *B. caapi*.



**FIGURA 4:** Ilustração do caule da *Banisteriopsis*

As  $\beta$ -carbolinas são compostos indólicos tricíclicos, conforme pode ser visualizado na Figura 1, que são relacionados biossinteticamente e farmacologicamente com as triptaminas. Elas são prontamente sintetizadas via condensação das indolaminas com aldeídos ou alfa-ceto-ácidos e sua biossíntese provavelmente também se processam via reações similares (MELCHIOR & COLLINS, 1982).

Outro fato interessante observado é que o alcalóide HRM está sempre presente em concentrações uniformemente maiores em relação à HRL, na proporção de 10:1 e em “plantas velhas”, com 7 a 9 anos de idade as concentrações dos alcalóides da harmala são baixos (CALLAWAY, 2005b). Na Tabela 1 é possível se comparar às concentrações dos principais alcalóides presentes na ayahuasca, obtidas por diferentes pesquisadores em trabalhos distintos.

**TABELA 1** - Teores dos principais alcalóides presentes na ayahuasca: dimetiltriptamina (DMT), tetraidro-harmina (THH), harmalina (HRL) e harmina (HRM), obtidos por diferentes pesquisadores em trabalhos distintos

Fonte da Pesquisa	Concentrações dos alcalóides em mg/mL			
	DMT	THH	HRL	HRM
MCKENNA <i>et al.</i> (1984)	0,60	0,16	0,04	0,47
CALLAWAY <i>et al.</i> (1996)	0,24	1,07	0,20	1,70
YRITIA <i>et al.</i> (2002)	0,53	0,72	0,06	0,90
CALLAWAY <i>et al.</i> (2005)	12,67	5,42	0,09	5,58
CALLAWAY <i>et al.</i> (2005)	6,60	7,71	0,00	6,84
CALLAWAY <i>et al.</i> (2005)	1,14	14,32	0,38	14,48
CALLAWAY <i>et al.</i> (2005)	1,12	1,82	0,23	2,25
GAMBELUNGHE <i>et al.</i> (2008)	0,24	ND	0,06	0,34
PIRES <i>et al.</i> (2009)	0,53	0,36	1,01	0,54

Obs.: Valores inferiores a 0,01 mg/mL reportados como 0,00 mg/mL  
 ND = Não determinado

Na tabela acima, isso significa, por exemplo, que no experimento de CALLAWAY, uma dose típica de 100 mL dessa bebida contém 24 mg de DMT, 20 mg de harmalina, 170 mg de harmina e 107 mg de tetraidro-harmina. As diferenças nas concentrações e proporções dos alcalóides encontrados nos chás de ayahuasca estão provavelmente relacionadas com o método de preparação e a quantidade e proporção das partes das plantas empregadas em seu preparo, bem como as variedades das espécies utilizadas (MCKENNA, 2004; CALLAWAY, 2005b).

No artigo publicado por CALLAWAY *et al.* existem quatro diferentes dados em virtude das amostras de bebida terem sido fornecidas por a diferentes fontes: Barquinha, Santo Daime, Tribo dos Shuar e UDV (CALLAWAY, 2005b).

Membros de seitas com longa experiência de uso mencionam que a utilização de diferentes espécies de *Banisteriopsis* e *Psychotria* produz diferentes tipos de visão, mais ou menos potentes conforme a espécie (ARANHA *et al.* 1991).

#### 1.4. FARMACOCINETICA DOS ALCALÓIDES DA AYAHUASCA

No reino vegetal, tanto a DMT e seus derivados, quanto às  $\beta$ -carbolinas e seus derivados encontram-se amplamente espalhados (ALLEN, HOLMSTEDT, 1980). No caso da DMT ela também está presente em animais marinhos anfíbios e no homem, sendo encontrada no sangue, na urina e no fluido cérebro-espinhal (BLOOM *et al.* 1982; STRASSMAN, 1996).

Estudos de farmacocinética dos alcalóides presentes na ayahuasca são escassos na literatura. CALLAWAY *et al.* (1999) relataram resultados da medida de concentração plasmática de voluntários que ingeriram a bebida durante o andamento de uma cerimônia religiosa. O experimento envolveu 15 voluntários, membros da UDV, do sexo masculino e que já possuíam um histórico longo de utilização da bebida. Um dos indivíduos teve que ser descartado do experimento em virtude de não apresentar níveis mensuráveis de DMT, possivelmente devido à êmese causada pela ingestão da ayahuasca. Os teores de alcalóides encontrados podem ser vistos na Tabela 2. Neste trabalho foram descritos ainda métodos analíticos, conduta psicológica antes, durante e depois da ingestão, alterações na recaptura da serotonina, resultados farmacocinéticos seguidos da ingestão e sua correlação com alguns efeitos farmacodinâmicos. Com relação aos efeitos subjetivos, a duração dos mesmos foi coincidente com os níveis de alcalóides presentes no plasma. Houve aumento de hormônios que retornaram ao normal após 6 horas e no caso do cortisol houve aumento significativo, para em seguida descer abaixo dos valores basais. Foram realizadas medidas automáticas de diâmetro da pupila, nível de respiração e temperatura oral, sendo que todas aumentaram e também nas pressões sistólica e diastólica e nos batimentos cardíacos por minuto, que também tiveram elevação (CALLAWAY, 1999).

**TABELA 2** – Resultados farmacocinéticos de concentrações dos principais parâmetros farmacocinéticos: concentração máxima (C<sub>max</sub>), tempo meia vida (T<sub>1/2</sub>) e tempo máximo (T<sub>max</sub>) dos principais alcalóides da ayahuasca presentes no plasma: dimetiltriptamina (DMT); harmina (HRM); harmalina (HRL) e tetraidro-harmina (THH)

<b>Substância</b>	<b>Concentração máxima (ng/mL)</b>	<b>T<sub>1/2</sub> (minutos)</b>	<b>T<sub>max</sub> (minutos)</b>
DMT (n = 12)	15,80	259	107,50
HRM (n = 14)	114,80	115,6	102,00
HRL (n = 05)	6,30	ND	145,00
THH (n = 14)	91,00	532	174,00

ND = Não determinado

Em outro estudo conduzido por RIBA *et al.* (2003), foram administradas doses de 0,6 e 0,85 mg de DMT/kg de peso corpóreo na forma de cápsulas de ayahuasca seca, em oito voluntários com histórico prévio de uso de psicodélicos. A ayahuasca produziu significantes efeitos subjetivos, com máxima intensidade alcançada entre 1,5 a 2 horas após a ingestão. A concentração plasmática máxima de DMT após a menor e a maior dose foi de 12,14 ng/mL e 17,44 ng/mL, respectivamente. O tempo que se obteve a C<sub>max</sub> coincidiu com o pico de intensidade de efeitos subjetivos.

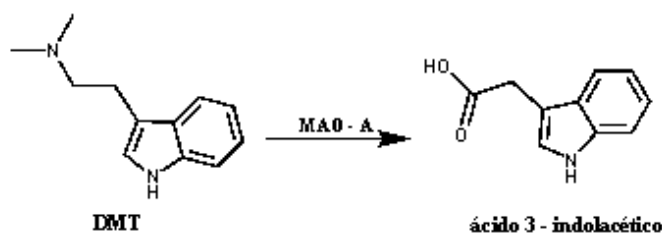
Nestes estudos, tem-se observado também que o metabolismo dos indivíduos usuários da bebida respondem de forma diferente frente o consumo das mesmas quantidades do chá (CALLAWAY *et al.* 1999; CALLAWAY *et al.* 1996; RIBA *et al.* 2003)

Uma das explicações para tal fato está no estudo do polimorfismo genético da enzima CYP2D6, do citocromo P450, que recentemente teve demonstrada sua eficiente ação metabolizadora da 5-MeO-DMT e 6-metoxi-tetrahydro-β-carbolina (6-

MeOTHBC), para derivados mais hidrofílicos, possivelmente visando posterior eliminação (CALLAWAY, 2005a).

Tanto a HRL quanto a HRM agem inibindo a MAO-A e ambas são metabolizadas pela CYP2D6. No entanto, as concentrações de HRL são bem menores que as de HRM (YU *et al*, 2003).

Já a metabolização da THH não sofre grandes alterações em virtude da CYP2D6, indicando que pode haver outras enzimas envolvidas no processo. A DMT sendo uma amina é metabolizada pela MAO. A reação de metabolização pode ser visualizada na Figura 5. Verificou-se que sua metabolização está diretamente ligada aos níveis plasmáticos de HRM. A HRM por sua vez é inibidora da MAO, logo se a HRM inibe a MAO, ocorre aumento da concentração plasmática da DMT. Os estudos sobre metabolização da DMT em humanos são escassos. Sabe-se que de uma dose administrada por via intramuscular, menos que 0,1% são excretados na urina na forma inalterada, 25% são biotransformadas a ácido 3-indolacético (AIA). Tal perfil sugere que possivelmente há outros metabólitos ainda não identificados, Existe a hipótese de que uma dessas vias alternativas seja através da quinureninase (CALLAWAY, 2005a; GOMES, 2008).



**FIGURA 5:** Metabolização da dimetiltryptamina (DMT) pela enzima monoaminoxidase-A (MAO-A) com a formação do sub-produto ácido 3-indolacético

A DMT não tem atividade quando ingerida oralmente, sendo inativada até doses acima de 1000 mg (BRITO, 2004). Ao contrário, quando fumada ou na forma injetável é capaz de produzir efeitos alucinógenos, quase imediatos. Uma simples

inalação produz efeitos que duram em torno de 30 minutos, caracterizada por alucinações multicoloridas. Não há estudos sobre a toxicologia ou a cinética da DMT fumada. Já para a forma injetável com doses de 0,2 a 0,4 mg/kg, são observados efeitos quase instantaneamente, sendo que os níveis sanguíneos associados com as visões foram medidos em 32-204 ng/mL. E nas concentrações de 30-150 mg (0,4 – 2,0 mg/kg) por via intramuscular ela foi classificada como extremamente ativa (OTT, 1999).

Já para o chá, o tempo para início dos efeitos é de aproximadamente uma hora após a ingestão. Esses efeitos, que são menos intensos que os produzidos pela DMT parenteral ou fumada, aumentam progressivamente até o pico em 01h15min, permanecendo constantes por um período de 45 minutos à uma hora, seguida de mais cerca de 1 hora de efeitos decrescentes, que finalizam em aproximadamente 3-4 horas (OTT, 1999; BRITO, 2004).

JONATHAN OTT, químico com extensa experiência em pesquisa no México, através de auto-experimentação de “farmahuasca”, (termo utilizado pelo autor para designar cápsulas contendo DMT e  $\beta$ -carbolinas em concentrações diversas e desejadas conforme o resultado de cada etapa) e também da coleta de dados dos testes realizados por internautas, usuários da internet que fizeram uso das substâncias de forma independente e autônoma, foi capaz de comprovar os efeitos da ayahuasca “in vivo”, conforme a Tabela 3 (OTT, 1999).

**TABELA 3:** Correlação entre doses de dimetiltriptamina (DMT) x harmina (HRM) x efeitos observados através da ingestão de cápsulas de farmahuasca, cápsulas previamente preparadas em concentrações conhecidas e desejadas

Dose DMT	Dose HRM	Efeitos
20 mg (0,25 mg/kg)	40 mg	Nenhum efeito observado
20 mg (0,25 mg/kg)	120 mg (1,5 mg/kg)	Perceptível limiar do efeito Ayahuasca
30 mg (0,38 mg/kg)	120 mg	Limiar visionário ou psicotrópico
2,0 mg/kg	160 mg	Aumento progressivo dos efeitos visionários, conforme aumento das concentrações

Cada um dos componentes foram isolados e purificados na forma de base livre para o DMT e cloridrato para a HRM. Os efeitos farmacodinâmicos experimentados foram muito semelhantes a das poções genuínas da ayahuasca amazônica.

Ainda conforme OTT, os cerca de 70 auto-experimentos de 8 internautas também se estenderam a determinação de concentrações de 5-MeO-DMT, *N,N*-dietiltriptamina (DET ou T-9) que é o componente artificial, e da HRL, que se mostrou também capaz de substituir a HRM na “farmahuasca” (OTT, 1999).

Como já mencionado, alguns poucos métodos analíticos para determinação dos alcalóides da ayahuasca em plasma têm sido publicados. Nesses, a DMT tem sido quantificada por cromatografia em fase gasosa com detector de nitrogênio-fósforo (GC-NPD), enquanto  $\beta$ -carbolinas são determinadas por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) com detector de fluorescência (CALLAWAY *et al.*, 1996; YRITIA *et al.*, 2002). Recentemente, foi desenvolvido um método para determinação de triptaminas alucinogênicas em urina e sangue por cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC-MS) e cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa (LC-MS) (VORCE & SKLEROV, 2004).

## 1.5. FARMACODINÂMICA DOS ALCALÓIDES DA AYAHUASCA

Para se entender o mecanismo de ação da ayahuasca é interessante rever a fisiologia e metabolização do neurotransmissor serotonina.

A 5-hidroxitriptamina (5-HT, serotonina) é um dos principais neurotransmissores do sistema nervoso central (SNC), atuando também como regulador da função do músculo liso nos sistemas cardiovascular e gastrintestinal. Atua ainda como regulador da função plaquetária. É encontrada em altas concentrações nas células enterocromafins distribuídas pelo trato gastrintestinal, nas plaquetas e em regiões específicas do SNC. A 5-HT possui diversos subtipos de receptores, classificados em quatro famílias estruturais e funcionais: 5-HT<sub>1</sub>, 5-HT<sub>2</sub>, 5-HT<sub>3</sub> e 5-HT<sub>4</sub>, que por sua vez também possuem uma subclassificação (BUSH & MAYER, 2003).



Também é encontrada nos núcleos da rafe e no tronco cerebral que contém neurônios serotoninérgicos que sintetizam, armazenam e liberam serotonina como seu transmissor. Os neurônios serotoninérgicos cerebrais estão envolvidos em uma ampla gama de funções tais como sono, humor, sentido da dor, controle da temperatura e regulação da pressão arterial. Além dessas funções fisiológicas normais, pode estar relacionada também com condições patológicas, tais como enxaqueca, ansiedade e depressão (KATZUNG, 1998).

A 5-HT é sintetizada a partir do aminoácido essencial triptofano e sua principal via de metabolização é através da enzima MAO com a formação de 5-hidroxiindolacético (BUSH & MAYER, 2003).

Conforme o tipo de receptor existente no tecido, a 5-HT exercerá diferentes ações. Estudos preliminares indicam que as múltiplas ações da 5-HT podem ser explicadas por uma interação com mais de um subtipo de receptor simultaneamente. O receptor 5-HT<sub>1a</sub> encontra-se distribuído pelos núcleos da rafe e hipocampo, diminuindo o AMP cíclico (AMPc). O 5-HT<sub>1b</sub> aparece no globo pálido e gânglios da base e sua estimulação também leva à diminuição do AMPc. O receptor 5-HT<sub>1c</sub> ocorre no córtex e hipocampo gerando aumento do trifosfato de inositol (IP3) nesses locais (COSTA, 2005; BUSH & MAYER, 2003).

Assim como o 5-HT<sub>1c</sub>, o 5-HT<sub>2</sub> encontra-se distribuído nas plaquetas, músculo liso, córtex cerebral e fundo de estômago, e também causa aumento do IP3 (KATZUNG, 1998). Esse aumento do IP3 tem como consequência aumento da secreção e motilidade desses órgãos e tecidos, justificando alguns dos efeitos observados tais como vômito, diarreia, etc. Além disso, do ponto de vista metabólico, após a inibição da MAO, os níveis de 5-HT aumentam, estimulando a inervação vagal no cérebro, que também controla a inervação do trato digestivo, sendo esse um outro mecanismo de estímulo para aumentar a motilidade intestinal (BUSH & MAYER, 2003; CALLAWAY, 1994; COSTA, 2005).

Todos os receptores da 5-HT do subtipo 1, ao se ligarem a 5-HT ativam a proteína G inibitória que por sua vez inibe a enzima adenilciclase com consequente diminuição do AMPc e aumento da síntese de ATP, provocando todos os efeitos no

organismos decorrentes desse aumento e que explica os efeitos da DMT, que é um agonista serotoninérgico (BUSH & MAYER, 2003; CALLAWAY, 1994).

No sistema cardiovascular os principais efeitos da serotonina são: contração do músculo liso e potente vasoconstrição, exceto em músculo esquelético e no coração, sendo que no coração causa vasodilatação e agregação plaquetária. Com relação ao músculo liso bronquiolar, possui pequena ação estimulante, não apresentando efeitos significativos sobre a respiração. Já no sistema nervoso, essa substância é estimuladora potente das terminações nervosas sensoriais para dor e prurido (COSTA, 2005).

A DMT é um potente alucinógeno. Está fortemente ligada aos mecanismos de atuação da serotonina nos seus diversos receptores, possui potente ação agonista dos receptores 5-HT<sub>1a</sub>, 5HT<sub>1b</sub> e também do 5-HT<sub>2a</sub> e 5HT<sub>2c</sub>. Porém por via oral ela é inativada devido à degradação exercida pela MAO intestinal e hepática (YRITIA, 2002; FRECSKA, 2007; FRECSKA, 2008).

A princípio foram identificadas duas isoformas de monoaminoxidase (MAO-A e B). A MAO-A metaboliza preferencialmente a 5-HT e a norepinefrina. (HOFFMAN & TAYLOR, 2003).

As  $\beta$ -carbolinas também possuem propriedades alucinógenas se associadas a inibidores da MAO. Por serem inibidoras reversíveis da enzima MAO, elas aumentam os níveis de serotonina, dopamina, norepinefrina e epinefrina no cérebro, bloqueando a desaminação dessas aminas e promovendo efeitos sedativos primários. No entanto, também é sabido que as  $\beta$ -carbolinas por si só não produzem efeitos visionários, causando apenas sedação, semelhante aquela produzida pelos benzodiazepínicos, razão pela qual as plantas ricas em  $\beta$ -carbolinas são usadas mundialmente como sedativas. Tal fato pode facilmente ser justificado em função da dose, pois as quantidades de  $\beta$ -carbolinas presentes numa dose de ayahuasca são bem abaixo do limiar de sua atividade alucinogênica própria, que são de 300 a 500 mg para HRL e THH e de 100 mg para HRM, porém acima do limiar para atividade como inibidora da MAO. Além disso, uma poção tradicional contém 3 partes de HRM para 1 parte de tetraidro-harmina (THH) e apenas traços de HRL (OTT, 1999; CAZENAVE, 2000; BRITO, 2004).

A HRM e a HRL são as que possuem maior efeito inibidor da MAO-A, porém, além da inibição da degradação da DMT exercida pela MAO, há estudos que relatam que a THH, a segunda mais abundante  $\beta$ -carbolina presente na ayahuasca também age como inibidora da recaptção da serotonina tão bem como as demais  $\beta$ -carbolinas inibidoras da MAO. Dessa forma, não só a degradação está bloqueada, como a recaptção também está inibida, aumentando mais ainda os níveis de 5-HT no cérebro (MCKENNA, 1998; FRECSKA, 2008; LUNA, 1986). Dessa forma, observa-se que por ocasião da ingestão simultânea das duas plantas contendo de um lado DMT, potente alucinógeno presente nas folhas da *Psychotria* associado as  $\beta$ -carbolinas presente na *Banisteriopsis*, inibidoras reversíveis da MAO, estas impedem a degradação do DMT, o que faz com que ele se torne ativo para a administração via oral. Este é o principal mecanismo de ação proposto para justificar a atividade oral da ayahuasca, fato este que, foi confirmado através de experimento “in vitro” por MCKENNA *et al.* (1984). Tal trabalho consistiu na coleta e análise qualitativa e quantitativa de 8 amostras no Peru utilizando cromatografia bidimensional em camada fina (TLC), cromatografia líquida de alta precisão (HPLC) acoplado a GC-MS. Foi demonstrado que amostras de ayahuasca eram extremamente efetivas “in vitro” numa fração citosólica de fígado de rato, assim como um análogo da ayahuasca (anahuasca) contendo 69% HRM, 26% THH e 4,6% HRL simulando uma dose real de ayahuasca. Dessa forma, foi concluído que a ayahuasca é um inibidor potente da MAO in vitro, comprovando a teoria de Holmstead e Lindgreen proposta em 1967.

A iproniazida, a isocarboxazida, a moclobemida, inibidoras artificiais da MAO podem bloquear parcialmente ou totalmente os efeitos da DMT, indicando que provavelmente agem como ativadores, mas não potenciadores. Já a metisergida potente antagonista da serotonina teve efeito potencializador muito forte quando administrada de forma intramuscular. Aparentemente os inibidores da monoaminoxidase (IMAOs) têm uma atuação ativadora quando por via oral, mas não necessariamente o mesmo efeito quando administradas via outras vias, sendo que se observa até mesmo efeitos menos potentes (OTT, 1999).

## 1.6. PRINCIPAIS EFEITOS DA AYAHUASCA

Entre as várias substâncias psicoativas existentes, somente cinco, foram classificadas como verdadeiros alucinógenos, uma vez que compartilham duas características: produzem efeitos subjetivos similares e desenvolvem tolerância cruzada. São elas: a dietilamida do ácido lisérgico (LSD), a psicilocibina, encontrada em cogumelos; a dimetiltriptamina (DMT), encontrada em várias plantas, a mescalina, encontrada no cacto *peyote* e a 2,5 dimetoxi-4-metilanfetamina (DOM) (JACOBS, 1987).

Embora a maior parte dos efeitos benéficos da ayahuasca esteja no campo subjetivo, também existem estudos que comprovam que seus principais constituintes possuem outras ações. AHMAD *et al.* (1991) demonstraram atividade anti-bacteriana e anti-fúngica da HRM, HRL e seus derivados. A HRM mostrou-se eficaz tanto contra gram-positivas quanto contra gram-negativas, exceto para alguns microorganismos tais como *Streptococcus pyogenes*, *Vibrio cholerae* entre outros. Em relação aos fungos, a HRM mostrou-se eficaz contra as oito espécies avaliadas. A THH mostrou fraca atividade para ambos os testes.

Através da ingestão de uma dose média de ayahuasca, que usualmente gira em torno de 150 mL, são reportados os seguintes efeitos no plano psíquico: profundas e rápidas alterações dos estados emocionais, o indivíduo vai da depressão a euforia em poucos segundos, pânico, apatia, alterações na memória e no pensamento, despersonalização e hipersugestibilidade, aparecimento de objetos que vibram e aumentam sua luminosidade; figuras se movem rapidamente e cenas emergem visíveis com os olhos abertos ou fechados (conhecido como estado visionário) e perda da habilidade de falar coerentemente (GABLE, 2006). Também são descritos por RIBA *et al.* (2005) sensações como: felicidade, tristeza, temor, espanto, sensação de bem-estar, podendo ser acompanhado por sentimentos de terror; choro implorando por perdão.

No plano perceptivo-sensorial: distorções de tempo e espaço, estranhas sensações corporais, alterações nas percepções de formas, cores, sons, sinestésias e alucinações com alterações auditivas, olfativas e visuais (SHANON, 2003).

Os efeitos subjetivos similares podem ser exemplificados na área somática por náuseas, vômitos, tremores, tonturas, debilidade, contratura muscular, hiper-reflexia, dores generalizadas (CALLAWAY, 1998). Embora os agentes psicodélicos atuem nos mesmos receptores cerebrais e produzam similares mudanças somáticas, psíquicas e perceptivo-sensoriais, elas por si só não são os fatores determinantes das características da “viagem psicodélica”. Estas substâncias apenas seriam responsáveis pela abertura da mente a outras formas de percepção da realidade. Estando esses espaços abertos, cada homem, considerando sua formação cultural, pode experimentar emoções e sensações totalmente diferentes (PELAEZ, 2004).

O potencial terapêutico da ayahuasca está diretamente ligado ao conceito da cura espiritual. O processo da cura espiritual não é fácil, sendo considerado lento e doloroso. Engloba mudanças na personalidade, nas relações do indivíduo com seu próprio corpo, auto-reavaliação de seu papel profissional, e por fim, mudanças na inter-relação do indivíduo com a sociedade e também com a natureza (PELAEZ, 2004).

Entre os possíveis efeitos terapêuticos da ayahuasca estão o tratamento da dependência ao álcool e também da dependência às drogas. Esse efeito, a princípio, está muito mais envolvido com a mudança do estilo de vida que é experimentado pelo usuário e com o apoio emocional recebido pelo mesmo da comunidade religiosa. Prova disso é a diminuição da violência doméstica que também foi observada em membros da UDV (MCKENNA, 2004; LABIGALINE, 1998).

Também foi constatada a melhora no quadro de indivíduos que possuíam um déficit no sistema serotoninérgico. A princípio parece que o uso regular da ayahuasca promove um aumento no número de receptores de serotonina no cérebro, o que pode ser devido à presença das  $\beta$ -carbolinas existentes no chá. O transporte da serotonina para o cérebro está intimamente envolvido com a síndrome serotoninérgica, sendo que já foi observado em vários estudos anteriores que indivíduos com histórico suicida, de violência incontrolável, alcoolismo, depressão, esquizofrenia, entre outros, possuem uma nítida defasagem nos transportadores de serotonina envolvidos nesse processo, acarretando diminuição desse neurotransmissor nas terminações nervosas (MCKENNA, 2004).

Conforme TOPPING *et. al.*, (1998), existem casos consideráveis de relatos de remissão de cânceres e outras enfermidades relacionadas, mediante o uso regular da ayahuasca. No entanto o autor não entra em detalhes, em relação às quais exatamente seriam esses cânceres e qual o seu grau de comprometimento nos indivíduos, atendo-se principalmente a sua própria experiência, que no caso é um câncer de fígado. Deixa um questionamento sobre o porquê vários xamãs, usuários da bebida, possuem uma vida tão longa, vivendo em condições não favoráveis, como são aquelas nos países do terceiro mundo.

FRECSKA (2008) relatou um caso bem documentado onde o consumo de ayahuasca provocou no usuário uma reviravolta na personalidade e significativa regressão do comportamento agressivo. O indivíduo, um ex-presidiário condenado por dois homicídios, já havia sido submetido a tratamento prolongado com Inibidores Seletivos da Recaptação da Serotonina (IRSS), sem obtenção de melhoras, sendo que após seis meses de utilização da bebida em cerimônias religiosas e com o apoio do grupo, demonstrou arrependimento e submissão frente aos erros do passado.

Outro grupo focalizado em estudos foram os adolescentes. Em 2005, foi realizado um estudo com 80 adolescentes na faixa etária de 16-19 anos de idade, de ambos os sexos, sendo que quarenta deles eram consumidores da ayahuasca e pertencentes à UDV e quarenta considerados como grupo controle, nunca haviam ingerido a bebida. A todos foram administrados testes neuropsicológicos, visando medir concentração, inteligência, memória, linguagem, função motora e habilidades visuais, funcionais entre outros testes. Não foram obtidos resultados que indiquem diferenças potenciais entre os dois grupos. No entanto, é fato que os adolescentes pertencentes à UDV consomem pouco álcool e outras drogas o que nos leva a hipótese de que o fato de consumirem a ayahuasca pode estar protegendo-os de drogas mais perigosas, uma vez que o consumo dessas, simplesmente é substituído pela bebida (DOERING-SILVEIRA, 2005).

A serotonina possui importante papel na regulação do ciclo sono-vigília. Em virtude disso, recentemente BARBANOJ *et. al.* realizaram um estudo com objetivo de investigar quais seriam os efeitos do consumo da ayahuasca durante o dia e sua relação nos parâmetros do sono. Os resultados mostraram que aparentemente não

houve qualquer prejuízo na qualidade do sono dos 22 voluntários estudados (BARBANOJ, 2007)

Um trabalho de revisão dos aspectos farmacológicos e toxicológicos da ayahuasca foi submetido para publicação na Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada (ANEXO III).

### **1.7. ASPECTOS TOXICOLÓGICOS**

Efeitos adversos à saúde podem ocorrer a partir do uso casual da ayahuasca, particularmente quando substâncias serotoninérgicas são utilizadas em conjunto. É fato que a DMT pode induzir episódios psicóticos transitórios, que no entanto, se resolvem espontaneamente em algumas horas. Até o momento, não houve estudos conclusivos de que a ayahuasca possua potencial de abuso substancial ou persistente. Por outro lado, vem sendo registrados os benefícios psicológicos a longo prazo dentro de um uso contextualmente religioso, sendo que se têm observado que os usuários dedicados, com o tempo perdem o interesse pelo álcool, tabaco, cocaína entre outras substâncias (GABLE, 2006).

A DL50 reportada para camundongos, no caso da DMT, foi de 32 mg/kg por via intravenosa. Já as  $\beta$ -carbolicinas possuem DL50 de 2,0 g/kg, sendo dessa forma, bem menos tóxicas que a DMT do ponto de vista de exposição aguda. A extrapolação dos dados obtidos em camundongos para humanos é bastante comum. Quando há ausência de informações sobre a DL50 oral de uma substância, como no caso da DMT, deve-se assumir que humanos são 20 vezes mais sensíveis que roedores. Isto resulta numa DL50 para humanos de 1,6 mg/kg quando DMT é administrada por via intravenosa, ou seja, 112 mg para uma pessoa padrão de 70 kg (GABLE, 2006).

A biodisponibilidade de uma substância administrada por via intravenosa é assumida como 100%. Assume-se, então o fator de conversão da biodisponibilidade intravenosa para oral como 1:5 baseado na suposição que 0,4 mg/kg por via intravenosa ser equivalente a aproximadamente 2,0 mg/kg por via oral. Assim, estima-se, que por via oral a DL50 seja de 8 mg/kg (GABLE, 2006).

Observa-se que não há evidências de dependência física, mas alguma tolerância pode ser desenvolvida com o uso regular, sendo que podem ocorrer alterações nos níveis de neurotransmissores, principalmente da serotonina. (CALLAWAY *et al.*, 1994). Já no estudo realizado por STRASSMAN *et al.* (1996), especificamente para a DMT, foi demonstrado que seu uso isolado não desenvolveu tolerância crescente.

A margem de segurança da utilização da ayahuasca em uma cerimônia religiosa se compara ao uso da codeína, mescalina ou metadona. O potencial de dependência oral do DMT e perturbação psicológica são mínimos segundo GABLE, (2006).

Embora não seja comum, já foi relatado um caso de intoxicação fatal após ingestão da ayahuasca em um homem branco de 25 anos de idade, encontrado morto. A análise toxicológica do sangue revelou: *N,N*, dimetiltriptamina (0,02 mg/L); 5-metoxi-*N,N*-dimetiltriptamina (1,88 mg/L); THH (0,38 mg/L); HRL (0,07 mg/L) e HRM (0,17 mg/L). A causa da morte apontada pelo médico legista foi intoxicação alucinógena por aminas (SKLEROV, 2005). Em contrapartida, essa publicação foi contestada por CALLAWAY (2006), que relata que nenhuma mistura de plantas, tradicionalmente usadas a centenas de anos em cultos de tribos indígenas concentraria quantidade suficiente de 5-metoxi-*N,N*-dimetiltriptamina para levar a óbito um ser humano. Aventa a hipótese de que a pessoa em questão poderia ter ingerido além do chá, a substância sintética, o que poderia justificar as altas concentrações encontradas no sangue do jovem. Outra possibilidade seria a de se ter confundido a *N,N*-dimetiltriptamina que é o componente usual da ayahuasca com o seu análogo 5-metoxi-*N,N*-dimetiltriptamina que possui um potencial tóxico muito mais relevante e significativo (CALLAWAY, 2006).

As  $\beta$ -carbolinas parecem não ser potencialmente tóxicas, sendo que a DL50 em ratos é de 120 mg/kg. Autópsias de bovinos que consumiram grandes quantidades de arbustos que contém harmalina demonstraram somente congestão passiva visceral (LAING & SIEGEL, 2003).

Após a descoberta da produção endógena de DMT em humanos, se descobriu que um grande percentual de indivíduos que sofriam de esquizofrenia,



apresentavam altas concentrações de DMT na urina, sugerindo que essa doença poderia estar diretamente ligada as concentrações de DMT. No entanto, aprofundando-se nos estudos, foi verificado que nem todos os indivíduos esquizofrênicos tinham esse aumento da DMT, sendo a hipótese descartada. Em 2001 foram descobertos os receptores para amina traço (TA), como triptamina e tiramina. Esses receptores, assim como  $5HT_{2A}$  e  $5HT_{2C}$  são acoplados a proteína G e estão envolvidos aos centros emotivos do corpo, mostrando possível conexão com condições psiquiátricas alteradas. Foi sugerida então a hipótese de ligação da DMT com receptores TA, gerando uma nova interpretação de sua presença em concentrações diferenciadas na urina de esquizofrênicos. Alguns pesquisadores acreditam que o aumento da produção de DMT seja uma resposta homeostática do organismo, no sentido de inibir a atividade psicótica. Se esse raciocínio estiver correto, DMT em baixas concentrações agiria como ansiolítico endógeno, ao passo que em altas, está associado com atividade alucinogênica (GOMES, 2008).

Tanto a serotonina, quanto outras triptaminas, inclusive a DMT, possuem seletividade para serem metabolizadas pela MAO-A. Em paralelo, as  $\beta$ -carbolinas também possuem essa alta seletividade de inibição da MAO-A em relação à MAO-B. A tiramina é uma catecolamina presente em vários tipos de alimentos diferentes, principalmente nos queijos, e é metabolizada pela MAO-A. Ela possui a capacidade de induzir a liberação de norepinefrina pelos neurônios simpáticos, levando a aumento da pressão arterial. Existe a hipótese de que se a dieta do indivíduo for rica em tiramina e simultaneamente ele ingerir ayahuasca, pode existir risco potencial de efeito adverso hipertensivo (BRITO, 2004; HOFFMAN & TAYLOR, 2003).

Com a contribuição de 30 voluntários, NARANJO (1967) estudou os efeitos específicos da HRL. Através do estudo foi constatado que alguns efeitos são realmente típicos para a mesma tais como alterações na noção de tempo que ao contrário de outras substâncias psicoativas permanecem inalteradas com a utilização da HRL, por outro lado, náuseas e desconforto estão quase sempre presentes. A HRL e a HRM também são alucinogênicas, porém não nas concentrações disponíveis usualmente na ayahuasca.

Com relação à toxicidade, é importante frisar que a principal situação na qual podem ocorrer reações mais graves é na síndrome serotoninérgica. A síndrome

serotoninérgica por sua vez, embora pouco conhecida, é relativamente séria e pode ter conseqüências sérias. Em 2005, último ano de que há estatísticas disponíveis, foram relatadas 118 mortes por síndrome serotoninérgica. Foi descrita pela primeira vez na literatura médica em 1959, em um paciente com tuberculose que foi tratado com meperidine. Mas a síndrome só recebeu seu nome atual em 1982. Pode ser definida como resultante da estimulação excessiva de receptores serotoninérgicos centrais e periféricos. É caracterizada por mudanças do estado mental e das funções motoras e autonômicas. O início das manifestações clínicas pode ocorrer horas a dias após a exposição ao agente causal. Em sua forma clássica, a síndrome de serotonina envolve três categorias de sintomas: confusão, desorientação, agitação, irritabilidade, falta de reação, ansiedade, espasmos musculares, reflexos exagerados, rigidez muscular, tremores, perda de coordenação e arrepios, febre, suor profuso, batimento cardíaco rápido, aumento da pressão sanguínea, náuseas, vômitos, diarréias e pupilas dilatadas (BUSH & MAYER, 2003; FRECSKA, 2008).

O diagnóstico da síndrome serotoninérgica por si só já é uma tarefa árdua, devido à sintomatologia extensa e variada, e aumentando esse desafio há o fato de que um grande número de drogas - prescritas ou vendidas sem receita, recreativas e herbáceas pode provocar a mesma (FRECKSCA, 2008).

# OBJETIVOS

## 2. OBJETIVOS

O objetivo geral do presente trabalho é a obtenção de parâmetros farmacocinéticos dos alcalóides da ayahuasca. Para obtenção desse objetivo, o seguinte plano de trabalho está sendo seguido:

✚ Desenvolvimento e validação de método analítico para determinação dos teores dos principais alcalóides presentes na ayahuasca

✚ Desenvolvimento e validação de método analítico para determinação dos alcalóides da ayahuasca presentes no plasma

✚ Determinação da concentração plasmática dos alcalóides da ayahuasca em usuários voluntários em intervalos de tempo pré-determinados

✚ Avaliação de parâmetros farmacocinéticos como concentração plasmática máxima ( $C_{max}$ ), tempo de ocorrência do  $C_{max}$  e tempo de meia vida de eliminação sanguínea ( $T_{1/2}$ )

# MATERIAL E MÉTODOS

## 3. MATERIAL E MÉTODOS

### 3.1. MATERIAIS

#### 3.1.1. Reagentes

Ácido clorídrico, acetato de etila, acetonitrila, tetraborohidreto de sódio, diclorometano, etanol, formaldeído, formiato de amônio, metanol, tetrahydroflurano foram adquiridos da Merck (Darmstadt, Alemanha). Ácido sulfúrico hidróxido de sódio micropérolas, sulfato de magnésio anidro, sulfato de sódio anidro foram adquiridos da Labsynth (São Paulo, Brasil). N--hexano, N-pentano foram adquiridos do laboratório Cinética Química (São Paulo, Brasil). As substâncias testadas como padrão interno: cloridrato de imipramina, cloridrato de yoimbina e cloridrato de clomipramina foram adquiridas da Pharmanostra Comercial Ltda. (São Paulo, Brasil). Gases especiais para cromatografia em fase gasosa: hidrogênio, hélio, nitrogênio e ar sintético (Air Products).

#### 3.1.2. Equipamentos e acessórios

Aparelho de ressonância magnética nuclear (NMR), Bruker Coluna Classic Sep-Pack® C18 (360mg) foram adquiridas da Waters Co. (Bellefonte, EUA) - Equipamento de cromatografia em fase gasosa com detector de nitrogênio-fósforo (NPD) e detector de ionização por chama (FID) Agilent 6890N equipado com coluna capilar de sílica fundida 5% fenilmetilsiloxano Ultra-2 (Agilent Technologies) com as seguintes dimensões: 25 m x 0,2 mm id x 0,33 µm. Equipamento de cromatografia líquida acoplado ao espectrômetro de massa - LC/MS com analisador do tipo *ion trap* (HPLC SIL-20AC Prominence Shimadzu e espectrômetro de massas Esquire-HCT Bruker com ionização por *electrospray*). Sistema de vácuo para extração em fase sólida (Supelco).

### 3.1.3. Padrões e soluções-padrão

Os padrões de harmina (cloridrato), harmalina (cloridrato), triptamina foram adquiridos da Sigma-Aldrich (Milwaukee, EUA). Harmina e harmalina foram utilizadas diretamente para preparação das soluções de trabalho. Triptamina foi utilizada para síntese do DMT. O padrão de difenidramina foi adquirido da All Chemistry do Brasil Ltda (São Paulo, Brasil).

A partir dos padrões foram preparadas soluções de trabalho de diversas concentrações, utilizando-se sempre metanol como solvente. As principais concentrações utilizadas para doseamento dos alcalóides no chá foram de 1 mg/mL e para doseamento no plasma de 1 ng/mL, de cada uma das substâncias. As soluções foram armazenadas sob refrigeração.

Os padrões de DMT – dimetiltriptamina, DMT-D6 – dimetiltriptamina deuterada e THH – tetraidro-harmina foram sintetizados em laboratório, identificados por NMR e confirmados através de GC-MS com relação a sua identidade e grau de pureza.

### 3.1.4. Exsicata das plantas componentes da ayahuasca

Exsicata é uma amostra de planta seca e prensada numa estufa (herborizada), fixada em uma cartolina de tamanho padrão acompanhadas de uma etiqueta ou rótulo contendo informações sobre o vegetal e o local de coleta, para fins de estudo botânico.

Foram coletadas plantas com suas estruturas reprodutivas para facilitar a identificação. Para a *Banisteriopsis caapi* foram coletados ramos floridos e para a *Psychotria viridis* foram coletados ramos aéreos frutificados.

Foram tiradas fotos das estruturas em cartolina quadriculada com escala desenhada com quadrados de 5 x 5 cm. Devem ser anotados dados da coleta (com GPS – Global Positioning System), nome científico e popular da planta, data da coleta, coletores, etc.

A secagem inicial do material foi feita à sombra, com o material prensado em jornal. A planta foi fixada em papel ou cartolina, e costurada com linha e agulha.

Posteriormente, a planta foi levada para estufa a 40 °C por 4-5 dias. Uma legenda com todos os dados coletados e nome do botânico que a identificou foi preparada de acordo com os moldes do herbário onde a exsicata foi depositada.

A exsicata da *Banisteriopsis caapi* foi depositada no herbário do Instituto de Biologia da Universidade de São Paulo (Figura 6). A exsicata da *Psychotria viridis* foi depositada no herbário do Instituto Agrônomo de Campinas da Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo (Figura 7). As informações sobre as exsicatas estão disponíveis *on line* através do site <<http://www.splink.cria.org.br>> e foram resumidas nas Tabelas 4 e 5.



**FIGURA 6** – Fotos para identificação e registro da exsicata da *Banisteriopsis caapi*.



**FIGURA 7** – Fotos para identificação e registro da exsicata da *Psychotria viridis*.



**TABELA 4** – Informações de registro da exsicata de *Banisteriopsis caapi*

Informações	Exsicata 1
Instituição	Universidade de São Paulo – Instituto de Biologia
Coleção	SPF
Catálogo	181147
Nome científico	Banisteriopsis caapi
Nomes populares	Jagube, Mariri, Cabi, Caupurí, Uni
Reino	Plantae
Divisão	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordem	Malpighiales
Família	Malpighiaceae
Gênero	Banisteriopsis
Espécies	caapi
Autor do nome científico	C.V. Morton
Identificado por	Mamede, M.C.H.
Ano de identificação	2007
Número do coletor	1
Coletor	Oliveira, C.D.R.
Ano da coleta	2007
Mês da coleta	Agosto
País	Brasil
Estado	São Paulo
Município	Araçoiaba da Serra
Localidade	Fazenda Santo Antônio. Igreja Céu de Fátima.
Longitude	-47,61
Latitude	-23,50
Altitude	760
Notas	Arbusto de porte médio, com cerca de 4 m de altura. Ramo florido. Cultivado.

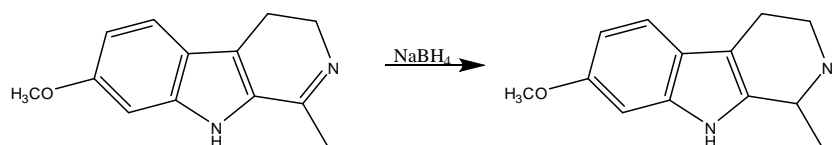
**TABELA 5** – Informações de registro da exsicata de *Psychotria viridis*

Informações	Exsicata 2
Instituição	Instituto Agronômico de Campinas
Coleção	IAC
Catálogo	48679
Nome científico	<i>Psychotria viridis</i>
Nomes populares	Rainha, Chacrona, Chacrana, Kawa
Reino	Plantae
Divisão	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordem	Gentianales
Família	Rubiaceae
Gênero	<i>Psychotria</i>
Espécies	<i>viridis</i>
Autor do nome científico	Ruiz & Pavón
Identificado por	S.L. Jung-Mendaçolli
Ano de identificação	2007
Número do coletor	1
Coletor	C.D.R. Oliveira; M.F.L.R. Almeida & J.M. Pires
Ano da coleta	2007
Mês da coleta	Setembro
País	Brasil
Estado	São Paulo
Município	Araçoiaba da Serra
Localidade	Fazenda Santo Antônio. Igreja Céu de Fátima. Rodovia Raposo Tavares
Longitude	-47,36
Latitude	-23,31
Altitude	760
Notas	Arbusto de porte médio (2 m de altura). Ramo frutificado. Cultivado.

## 3.2. MÉTODOS

### 3.2.1. Síntese da tetraidro-harmina (THH)

A tetraidro-harmina (THH) não possui padrão disponível para aquisição, portanto a metodologia empregada para sua síntese foi baseada no trabalho de CALLAWAY *et al.* (1996). Na Figura 8 visualiza-se a síntese de tetraidro-harmina a partir da harmalina.

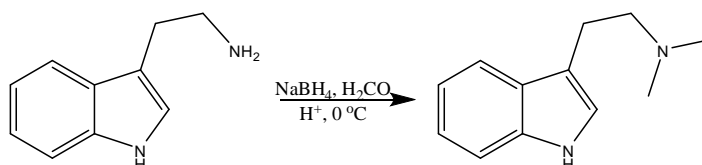


**FIGURA 8:** Síntese da tetraidro-harmina (THH) a partir da harmalina (HRL) submetida à ação de agente redutor tetraborohidreto de sódio (NaBH<sub>4</sub>).

Em resumo, o seguinte procedimento foi adotado: partindo-se de cloridrato de harmalina (502 mg, 2 mmol), pesada em balança analítica eletrônica foi lentamente adicionado a uma suspensão de tetraborohidreto de sódio (NaBH<sub>4</sub>, 76 mg, 2 mmol) em 30 mL de metanol a uma temperatura de 0 °C, sob agitação constante, tomando-se o cuidado de destampar esporadicamente para liberação do hidrogênio. Tal procedimento foi mantido por cerca de 2 horas, sendo que então a mistura foi acidificada com uma solução de ácido clorídrico 1M, para eliminação do excesso de tetraborohidreto até pH=2,0. A seguir, foi adicionada solução aquosa de hidróxido de sódio 5 % (m/v), até pH=12, possibilitando a extração do produto com diclorometano (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), em triplicata (3 × 40 mL). As fases orgânicas foram recolhidas e secas com sulfato de magnésio anidro, filtradas e evaporadas sob vácuo. O resíduo formado foi purificado por recristalização utilizando etanol como solvente, o que gerou um pó sólido branco com rendimento superior a 80 % e ponto de fusão 197-199 °C.

### 3.2.2. Síntese da dimetiltriptamina – DMT

O procedimento escolhido para a obtenção do padrão analítico de DMT foi modificado a partir da metodologia proposta por GIUMANINI *et al.*, (1980). Na Figura 9 visualiza-se a reação química de síntese da DMT a partir da triptamina.



**FIGURA 9:** Síntese da dimetiltriptamina (DMT) a partir da triptamina e submetida à ação de agente redutor tetraborohidreto de sódio ( $\text{NaBH}_4$ ), banho de gelo, sob agitação constante

Em béquer de 50ml foi pesado triptamina 3x de 320 mg. E em tubos de vidro com tampa foi pesado  $\text{NaBH}_4$  3x de 620 mg, que foi prontamente fechado devido a seu alto potencial redutor.

Em outro béquer foi preparada uma solução de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  3N (1,62 mL), formaldeído 35% (0,950 mL), tetrahydrofurano (5 mL), sob agitação mecânica e banho de gelo – Solução A.

No béquer onde foi pesada a triptamina foi adicionado 15 mL de tetrahydrofurano, deixando sob agitação mecânica até total solubilização. A seguir foi adicionado o  $\text{NaBH}_4$  previamente pesado e lentamente foi gotejada a solução A.

Após alguns minutos foi adicionada 1,62 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  3N com agitação. Adicionado a seguir 10 mL de água destilada e micropérolas de  $\text{NaOH}$  até  $\text{pH}=14$ . A mistura ficou reagindo mais 30 minutos sob agitação. Ao final do processo formaram-se duas fases: orgânica (superior) e aquosa (inferior).

O mesmo procedimento foi repetido para as outras duas frações de triptamina e  $\text{NaBH}_4$  previamente pesados.

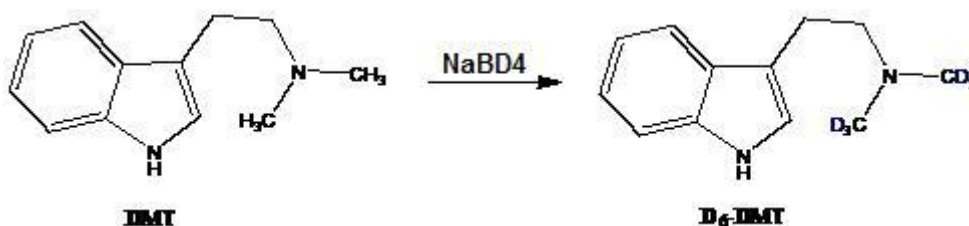
As três soluções obtidas foram reunidas no funil/balão de separação. Nessa etapa foi feita uma placa de cromatografia em camada delgada (CCD) para verificar a presença de DMT e triptamina.

A extração foi realizada com 30 ml éter etílico em triplicata, recolhendo a fase orgânica, que foi filtrada com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro e evaporada no rotavapor. A princípio foram obtidos dois produtos: produto de partida (triptamina) e produto final (DMT).

A seguir foi realizada coluna cromatográfica, utilizando sílica gel como fase estacionária para purificação do produto final desejado, obtido através de eluição com uma solução hexano/acetato de etila (80/20). Esse produto foi ainda purificado por recristalização (hexano/acetato).

### 3.2.3. Síntese da dimetiltriptamina deuterada - DMT-D6

A síntese da *N,N*-(D<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-dimetiltriptamina (DMT-D<sub>6</sub>) ocorreu através do mesmo processo citado anteriormente para a síntese do DMT. Para isto, utilizamos NaBD<sub>4</sub> como agente redutor ao invés de NaBH<sub>4</sub>. Este produto obtido, estável e marcado isotopicamente possui 6 u.m.a a mais que o composto a ser analisado (DMT), é um padrão interno ideal para avaliação de dimetiltriptamina por técnicas cromatográficas acopladas a analisadores de massas (pois possui as mesmas características físico-químicas do analito). A reação química que ocorre pode ser observada na Figura 10:

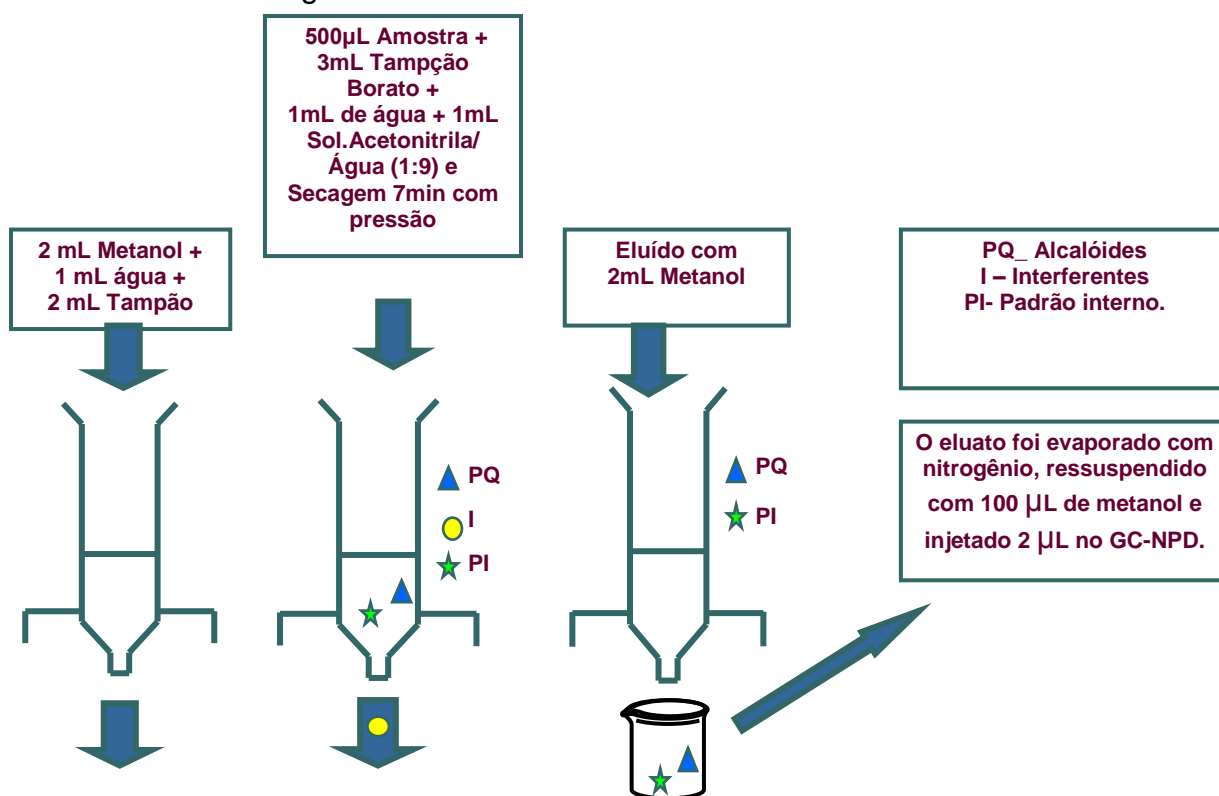


**FIGURA 10:** Síntese da dimetiltriptamina deuterada (DMT-D<sub>6</sub>) a partir da dimetiltriptamina (DMT) utilizando agente redutor deuterado (NaBD<sub>4</sub>)

### 3.2.4. Desenvolvimento de método para determinação dos alcalóides no chá

#### 3.2.4.1. Extração dos alcalóides do chá por SPE

O seguinte procedimento foi empregado: uma alíquota de 0,5 mL de ayahuasca foi adicionada de 3,0 mL de solução tampão borato (pH 9,0). Difenidramina foi utilizada como padrão interno (PI). Os cartuchos de SPE C18 foram condicionados com 2,0 mL de metanol, 1,0 mL de água deionizada e 2,0 mL de solução tampão borato (pH 9,0). Em seguida, a solução da amostra foi transferida para os cartuchos. A lavagem foi realizada com 1,0 mL de água deionizada e 1,0 mL de uma solução de acetonitrila/água (1:9). Após secagem por 7 minutos sob compressão, a eluição é feita com 2,0 mL de metanol. Do eluato, 2  $\mu$ L foi injetado no GC-NPD, nas condições previamente estabelecidas. Um esquema da extração pode ser visualizado na Figura 11.



**FIGURA 11:** Esquema das etapas extrativas da extração dos principais alcalóides no chá: dimetiltriptamina (DMT), tetraidro-harmina (THH), harmalina (HRL) e harmina (HRM) através de extração em fase sólida (SPE) e equipamento de cromatografia gasosa com detector de nitrogênio e fósforo (GC-NPD)

O método foi validado de acordo com a resolução 899 da ANVISA, obtendo-se os limites de detecção, de quantificação, linearidade, precisão intra e interensaio. O método foi publicado no *Phytochemical Analysis*, cuja cópia do trabalho está em ANEXO IV.

### **3.2.5. Desenvolvimento de método para determinação dos alcalóides em plasma por LC-MS**

Para extração dos alcalóides no plasma foi realizado procedimento semelhante ao empregado para extração dos alcalóides do chá. Para o preparo da amostra foi adicionado em tubo de vidro 15 mL, 1 mL de plasma, 3 mL do tampão borato pH=9,0. DMT deuterado foi utilizado como padrão interno. O processo de condicionamento da coluna, lavagem, secagem e eluição foram exatamente iguais. Do eluato 1 µL foi injetado no LC-MS, nas condições previamente estabelecidas.

#### **3.2.5.1. Otimização do Método**

Após alguns testes, optou-se por manter a DMT deuterada (DMT D6) como padrão interno tanto para a DMT quanto para as β-carbolinas.

Soluções padrão de 5, 50 e 500 ng/mL contendo dimetiltryptamina, harmina, harmalina e tetraidro-harmina foram utilizadas para a padronização das análises através de cromatografia líquida com detector de fluorescência, utilizando a coluna cromatográfica MAX 150x3 mm. Foi utilizado como gás nebulizador o hélio, com fluxo 0,2 mL/min. As soluções padrão foram injetadas no modo ESI positivo. Para verificarmos a separação das substâncias contidas na solução de trabalho foram realizadas análises cromatográficas com temperaturas variadas para a escolha das melhores condições, sendo determinado o tempo de retenção de cada analito, inclusive do padrão interno.

### **3.2.5.2. Validação analítica do método**

A validação de um método analítico é um processo contínuo que se inicia no planejamento da estratégia analítica e continua ao longo de todo seu desenvolvimento (RIBANI *et al.*, 2004). A validação de um método deve garantir através de estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando aplicabilidade dos resultados (AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2003).

Para a validação do método foram utilizadas amostras adicionadas com concentrações pré-determinadas de cada um dos alcalóides de interesse: DMT, THH, HRL e HRM. Foi utilizado equipamento de cromatografia em fase gasosa equipado com detector de nitrogênio e fósforo (GC-NPD). A validação foi realizada considerando os seguintes parâmetros: limite de detecção, limite de quantificação, linearidade, recuperação, precisão intra e interensaio, exatidão e estabilidade. Os limites de detecção e quantificação dos principais alcalóides do chá: DMT, HRL, HRM e THH foram determinados empiricamente, através de análise de seis replicatas de amostras adicionadas com quantidades decrescentes de cada um dos analitos.

#### **3.2.5.2.1. Limite de detecção e quantificação**

A obtenção dos limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) será realizada através de método empírico que consistirá na análise de uma série de amostras de plasma as quais serão adicionados os padrões de analitos em concentrações decrescentes.

O LOD é a menor concentração do analito presente em uma amostra que pode ser detectado (AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2003), porém não necessariamente quantificado, sob as condições experimentais estabelecidas, no qual apresenta um coeficiente que não exceda 20% para seis replicatas.

O LOQ é a menor concentração do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais



estabelecidas (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2003), apresentando um coeficiente de variação abaixo de 10% para seis replicatas.

#### **3.2.5.2.2. Recuperação**

Para estudo da recuperação foram elaborados dois conjuntos de amostras dos alcalóides. No conjunto 1, consistindo de três padrões de concentrações para cada analito: alto, médio e baixo, sendo respectivamente 3,0 mg/mL, 1,5 mg/mL e 0,3 mg/mL, foram adicionados 100 µL de difenidramina solução de 1mg/mL, que foi o padrão interno mais qsp 2 ml de metanol, em seis replicatas para cada concentração, sendo essas amostras diretamente injetadas no GC-NPD. No conjunto 2, também consistindo de seis replicatas para cada concentração (3,0, 1,5 e 0,3 mg/mL) o padrão foi adicionado às amostras imediatamente antes do procedimento de SPE. Para o cálculo das proporções dos analitos recuperados serão utilizadas as médias das razões entre as áreas obtidas no conjunto 1 em relação à resposta média obtida no conjunto 2, tomando-se como 100% a média das áreas dos analitos adicionados.

#### **3.2.5.2.3. Linearidade**

A linearidade foi estabelecida para avaliar a capacidade do método analítico em gerar resultados proporcionais à concentração do analito na amostra, em uma determinada faixa de concentração.

A determinação da linearidade foi realizada através de curva de calibração utilizando as concentrações de 0,02; 0,1; 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0 mg/mL, sendo cada concentração feita em triplicata. O padrão interno utilizado foi a difenidramina, sempre na concentração de 1 mg/mL.

As concentrações serão inseridas no eixo das abscissas (eixo X) e a razão obtida entre as áreas de cada alcalóide e do padrão interno no eixo das ordenadas (eixo Y); através de regressão linear, o coeficiente de determinação ( $r^2$ ) será

calculado e valores acima de 0,99 serão considerados satisfatórios para esse estudo.

#### **3.2.5.2.4. Precisão intra e interensaio**

As precisões intra e interensaio foram determinadas indiretamente pelo cálculo da imprecisão através da determinação do coeficiente de variação (CV). Analisando soluções de DMT, HRL, HRM e THH nas concentrações de 0,3, 1,5 e 3,0 mg/mL em três dias diferentes. As análises foram conduzidas em seis replicatas para cada concentração.

#### **3.2.5.2.5. Exatidão**

A análise da exatidão foi realizada em triplicata para amostras contendo dimetiltriptamina, harmina, harmalina e tetraidro-harmina nas concentrações de 0,3, 1,5 e 3,0 mg/mL. Aplicando-se a metodologia analítica proposta na análise dos alcalóides de concentração conhecida (padrão de referência), os resultados foram comparados com os obtidos em nova extração.

#### **3.2.6. Ética**

O Projeto foi submetido à apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, tendo sido aprovado conforme carta /protocolo anexo (ANEXO I).

#### **3.2.7. Coleta das amostras de plasma**

Amostras de sangue serão coletadas de 5 voluntários, de ambos os sexos com idade acima de 18 anos de uma comunidade religiosa localizada no interior de São Paulo.

Para tanto, serão seguidos os seguintes critérios de inclusão: ter consumido a bebida regularmente por não menos que um ano, pelo menos uma vez ao mês, sendo que tenha ingerido a bebida pelo menos um mês antes da coleta da amostra de sangue; apresentar bom estado de saúde, confirmado pela avaliação médica.

Os critérios de exclusão são: uso rotineiro de qualquer outra substância psicoativa (medicamento ou drogas de abuso), histórico de desordem psiquiátrica pessoal ou familiar em parentes de primeiro grau, dependência de álcool ou drogas. Os voluntários não devem ter feito uso de bebidas alcoólicas pelo menos 24 horas antes do início da coleta.

A seleção dos voluntários será realizada a partir de consulta médica antes do início da coleta. A coleta das amostras de plasma dos voluntários será realizada na Unidade Mista de Saúde de Capela do Alto, conforme carta de aceite (ANEXO II). Essa Instituição dispõe de uma equipe multidisciplinar, composta por farmacêutico, terapeuta ocupacional e médicos de várias especialidades como cardiologista e psiquiatras, além de atendimento ambulatorial (das 07h00min às 19h00min) e pronto-socorro 24 horas caso alguma situação de emergência seja observada.

A coleta de sangue será realizada com material descartável (escalpe estéril heparinizado) por profissionais competentes desta Unidade. A coleta será realizada nos seguintes intervalos de tempo: 0, 20, 40, 60, 90, 120, 240, 360 e 480 minutos após o consumo de uma dose de ayahuasca (150 mL). Uma alíquota de 5 mL será coletada em cada intervalo de tempo mencionado, e essa alíquota de sangue total será centrifugada e o plasma separado e armazenado sob refrigeração até posterior análise em nossos laboratórios.

### **3.2.8. Coleta de sangue após ingestão da ayahuasca**

Foram coletadas sete amostras de 3ml cada uma, conforme consta na Tabela 6, de dois voluntários do sexo masculino, hígidos, que não reportaram uso anterior da bebida. No dia anterior à coleta a alimentação foi leve e conforme reportado por ambos não houve ingestão de qualquer medicamento ou substância estimulante.

**TABELA 6 –** Tempos de coleta das amostras de sangue de dois voluntários do sexo masculino

<b>Voluntário 1</b>		<b>Voluntário 2</b>		<b>Tempo ingestão</b>
T0	8:30hrs	T0	8:45hrs	Branco
T1	8:50hrs	T1	9:05hrs	20 minutos
T3	9:30hrs	T3	9:45hrs	60 minutos
T5	10:30hrs	T5	10:45hrs	120 minutos
T6	12:30hrs	T6	12:45hrs	240 minutos
T7	14:30hrs	T7	14:45hrs	360 minutos
T8	16:30hrs	T8	16:45hrs	480 minutos

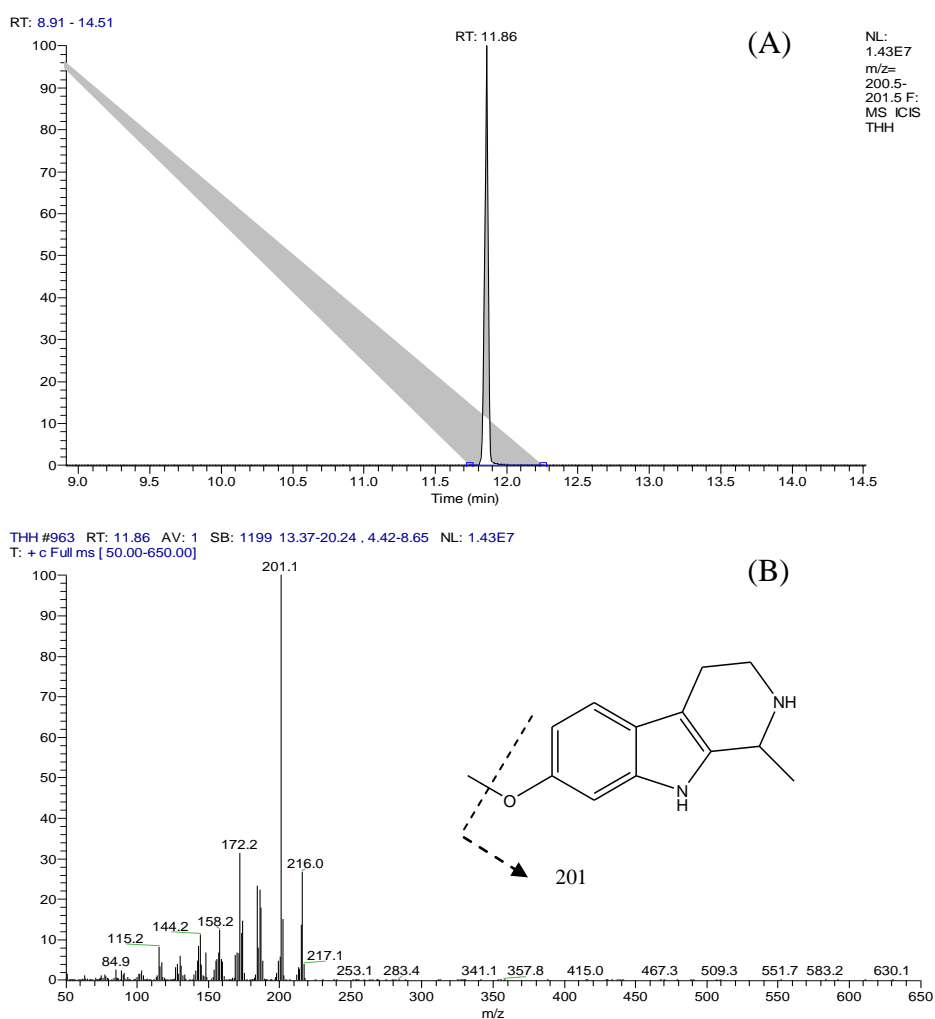
Não foram coletadas as amostras nos tempos T2 que deveria ser após 40 minutos da ingestão e T4 que seria após 90 minutos da ingestão da bebida. Para o T6 do voluntário 1 não ocorreu coleta, em virtude de quantidade insuficiente de sangue após duas tentativas.

# RESULTADOS

## 4. RESULTADOS

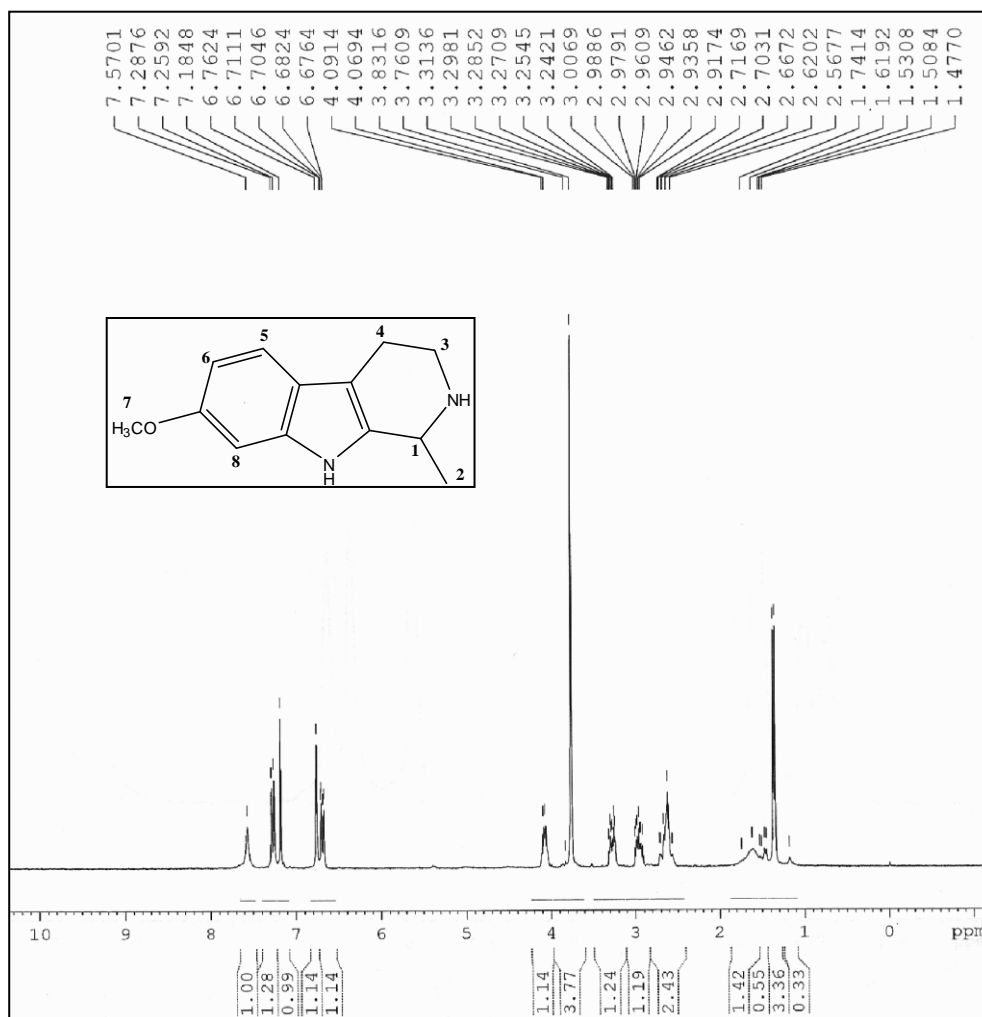
### 4.1. Síntese da tetraidro-harmina (THH)

A identificação da THH foi realizada pela análise por cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS) e ressonância magnética nuclear (NMR). Na técnica de espectrometria de massas, o modo de operação foi ionização por impacto de elétrons (EI). O perfil cromatográfico aponta como pico único, Para o espectro de massas é apresentado o íon molecular Massa = 216, m/z: 213, 214, 170, como pode ser observado na Figura 12.



**FIGURA 12:** (A) Perfil cromatográfico da injeção de solução de tetraidro-harmina (THH) sintetizada e purificada. (B) Espectro de massa obtido.

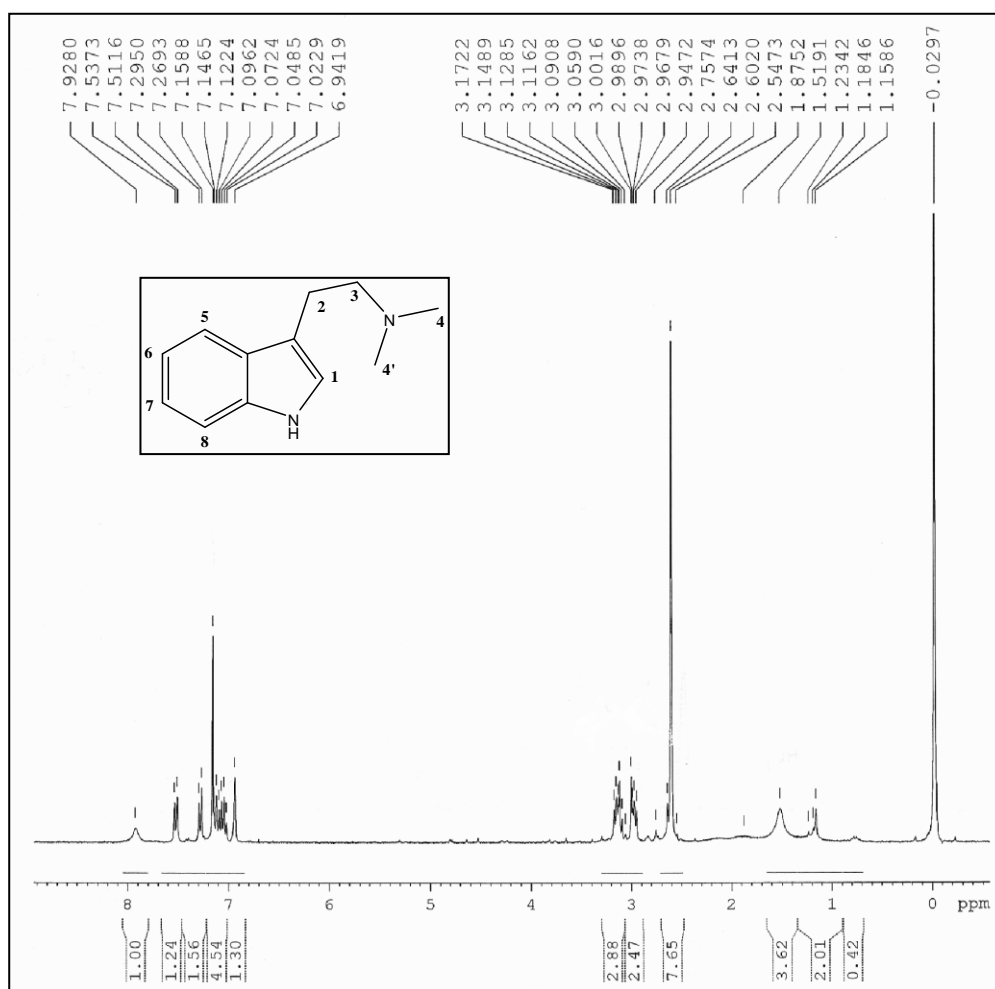
Na identificação por NMR, os seguintes resultados foram obtidos:  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS como referência, ppm)  $\delta$  1.36 (3H, d,  $J= 7.21$ ,  $\text{NHCHCH}_3$ );  $\delta$  2.66 (2H, T,  $J= 7.23$ ,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ ),  $\delta$  2.96 (2H, T,  $J= 7.22$ ,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ ),  $\delta$  3.27 (1H, q,  $J= 7.23$ ,  $\text{NHCHCH}_3$ ),  $\delta$  3.76 (3H, s,  $\text{OCH}_3$ ),  $\delta$  6.69 (1H, d,  $J= 6.8$ , Ph);  $\delta$  6.76 (1H, s, Ph),  $\delta$  7.27 (1H, s, Ph), e ESI-MS (m/z) data: 217  $\{\text{M}+\text{H}\}^+$ ; 201  $\{\text{M}-\text{CH}_3 + \text{H}\}^+$ ; 185  $\{\text{M} - \text{OCH}_3 + \text{H}\}^+$ ; conforme pode ser visualizado na Figura 13.



**FIGURA 13:** Espectro de NMR  $^1\text{H}$  do produto formado tetraidro-harmina (THH).

## 4.2. Síntese da *N,N*-dimetiltriptamina (DMT)

No caso da DMT obteve-se por:  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS como referência, ppm)  $\delta$  2.26 {s, 6H  $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ }; 2.55 {t, 2H,  $J= 7.22$ ,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$ }; 2.63 {t, 2h,  $J= 7.23$ ,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$ }; 7,3-7,5 (m, 4H, Ph): 7,2 (s, 1H, C+ -h); e ESI-MS, (M/Z) Data: 189 {M+H} $^+$ ; 145 {M-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> + H} $^+$ ; 117 {M - (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> + H} $^+$ ; como pode ser observado na Figura 14.

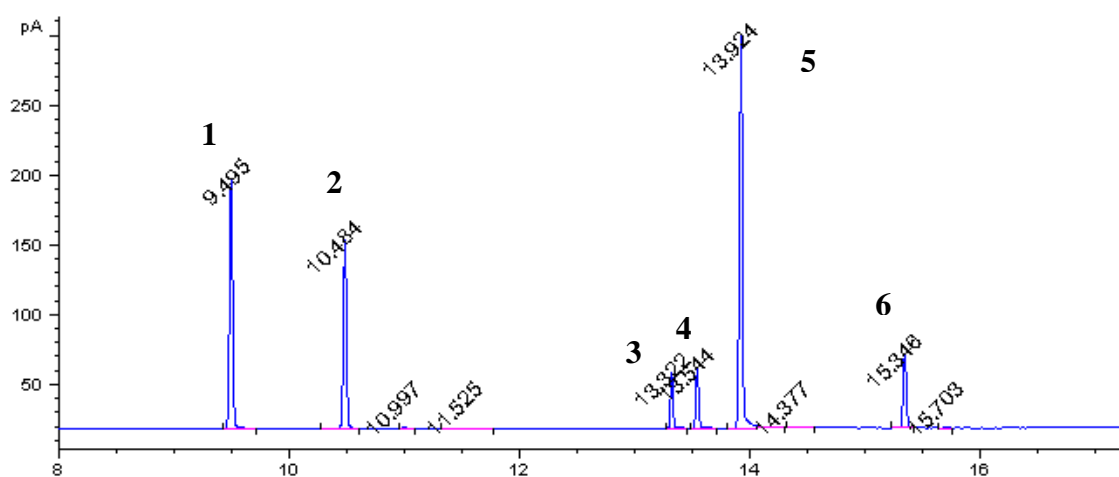


**FIGURA 14:** Espectro de NMR  $^1\text{H}$  do produto formado dimetiltriptamina (DMT)

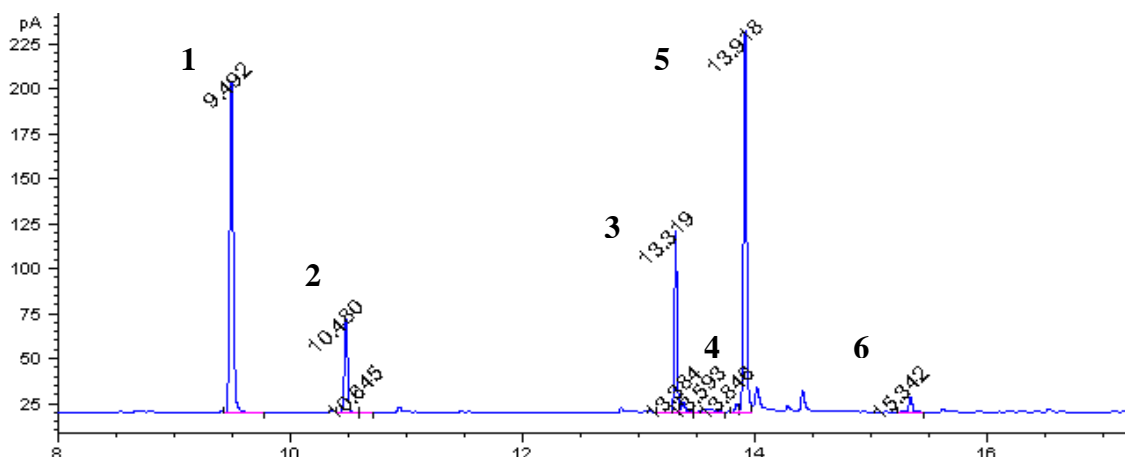


### 4.3. Extração por SPE

A extração em fase sólida utilizando cartucho C18 demonstrou bons resultados para determinação simultânea de DMT e  $\beta$ -carbolicinas. A partir da análise de adicionados dos padrões em água, puderam-se recuperar os analitos na extração. Na Figura 15 observa-se um cromatograma obtido pela injeção direta dos padrões, juntamente com os padrões difenidramina e clomipramina e na Figura 16, um cromatograma dos mesmos analitos submetidos ao processo de extração em fase sólida.



**FIGURA 15:** – Perfil cromatográfico de injeção direta dos padrões da ayahuasca (1) dimetiltryptamina; (2) difenidramina; (3) tetraidro-harmina; (4) harmalina; (5) harmina e (6) clomipramina, através da injeção em equipamento de cromatografia em fase gasosa equipado com detector de nitrogênio e fósforo (GC-NPD).



**FIGURA 16:** Perfil cromatográfico de amostra de ayahuasca submetido ao método de extração em fase sólida (1) dimetiltriptamina; (2) difenidramina; (3) tetraidroharmina; (4) harmalina; (5) harmina e (6) clomipramina, através da injeção em equipamento de cromatografia em fase gasosa equipado com detector de nitrogênio e fósforo (GC-NPD).

#### 4.4. Validação do método no chá

O método mostrou-se linear na faixa de concentração estudada para todos os analitos. As equações de regressão linear e os coeficientes de correlação obtidos foram: dimetiltriptamina ( $y = 8,9651x - 0,6738$ ;  $r^2 = 0,9971$ ); harmina ( $y = 3,9346x - 0,5288$ ;  $r^2 = 0,9946$ ); harmalina ( $y = 1,7309x + 0,0057$ ;  $r^2 = 0,9956$ ) e tetraidroharmina ( $y = 10,052x - 1,5445$ ;  $r^2 = 0,9941$ ).

Os resultados referentes à LOD e LOQ, recuperação, precisão intra e interensaio e exatidão podem ser vistos na Tabela 7. Para maiores detalhes de como os processos foram conduzidos ver artigo publicado no *Phytochemical Analysis* em anexo (ANEXO IV).

**TABELA 7:** Resultados dos parâmetros de validação do método para determinação dos principais alcalóides em amostras de ayahuasca: dimetiltriptamina (DMT), harmina (HRM), harmalina (HRL) e tetraidro-harmina (THH)

Parâmetros	Alcalóides			
	DMT	HRM	HRL	THH
LOD (mg/mL)	0,01	0,01	0,01	0,01
LOQ (mg/mL)	0,02	0,02	0,02	0,02
Recuperação (%)				
C1	89,9	70,4	92,8	87,4
C2	78,7	87,8	95,9	99,0
C3	81,7	82,9	68,4	84,5
Precisão Intra-ensaio (DPR,%)				
C1	3,6	9,4	9,5	8,7
C2	2,6	2,3	6,5	8,9
C3	1,9	1,3	9,7	2,4
Precisão Inter-Ensaio (DPR,%)				
C1	7,6	8,2	8,2	5,7
C2	6,3	2,2	6,4	1,4
C3	9,5	8,8	6,3	4,1
Exatidão (%)				
C1	95,5	105,4	94	102,6
C2	101	97,7	105	99,1
C3	99,6	100,5	97,1	100,2

LOD = Limite de Detecção; LOQ = Limite de Quantificação; C1 = 0,3 mg/mL;  
 C2 = 1,5 mg/mL; C3 = 3,0 mg/mL; DP =Desvio Padrão Relativo; DMT = Dimetiltriptamina;  
 HRM = Harmina; HRL = Harmalina; THH = Tetraidro-harmina

#### 4.5. Validação da otimização do método para detecção dos alcalóides no plasma

As condições cromatográficas que apresentaram os melhores resultados para a análise dos principais alcalóides da ayahuasca: DMT, HRM, HRL e THH, utilizando DMT-D6 como padrão interno estão apresentadas abaixo:

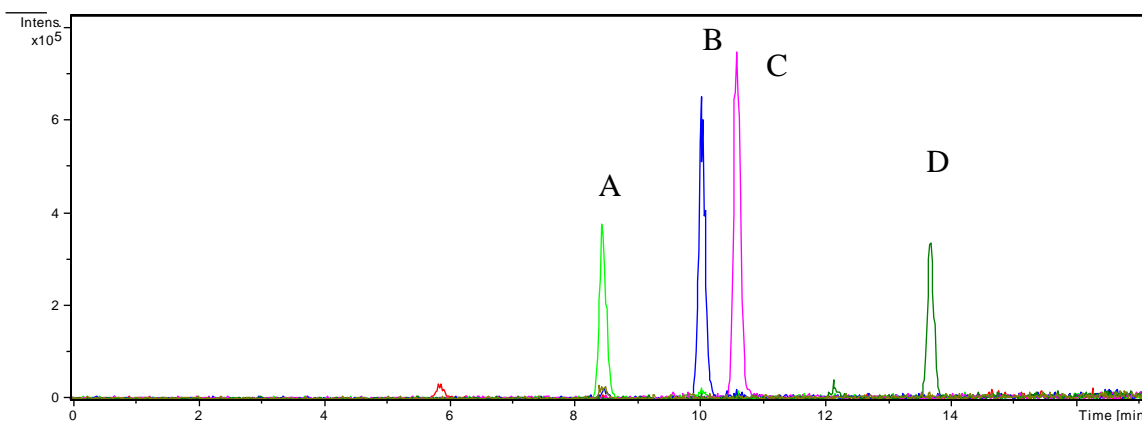
Fase móvel:

- A: 10 mM formiato amônio + 0,5% HCOOH
- B: Metanol

Gradiente

- 0.01 Pumps B.Conc20
  - 15.00 Pumps B.Conc70
  - 17.00 Pumps B.Conc90
  - 18.00 Pumps B.Conc90
  - 19.00 Pumps B.Conc20
  - 25.00 Pumps B.Conc20
  - 25.01 Controller Stop
- Condições do espectrômetro:
    - ESI modo positivo
    - Capilar 3500V
    - Drying gas 5 L/min
    - Nebulizer 20 psi
    - Scan 50 a 600

A seguir, na Figura 17, pode ser visualizado o cromatograma de 500 µL de plasma contaminados com 200 ng de analito, submetidos à extração SPE, ressuspensos em 2 mL de metanol.



**FIGURA 17:** Perfil cromatográfico de amostra de plasma adicionado dos padrões submetido ao método de extração em fase sólida – LC-MS. (A) dimetiltriptamina (DMT); (B) tetraidro-harmina (THH); (C) harmalina (HRL); (D) harmina (HRM)

#### 4.6. Análise dos efeitos subjetivos

##### Voluntário 1

Tomou em goles e não de uma só vez pois alegou sabor desagradável.

Às 9:20hrs reportou sentir-se meio estranho;

Às 9:40hrs relatou sensação esquisita, e tontura. Comentou que caso fosse necessário se locomover, provavelmente cairia;

Às 9:45hrs encontrava-se cabisbaixo, olhos fechados; comentou que eram sensações que fugiam a sua vontade e controle. Também reportou não se sentir capaz de discutir qualquer comentário ou ordem que lhe fosse apresentada.

Às 9:47hrs disse que o pico já teria passado, mas mesmo assim continuou de olhos fechados.

Às 9:55hrs comentou novamente que o pico já teria passado, mas continuou sonolento e sem ação.

Às 10hrs disse que já se sentia capaz de se locomover e de forma cambaleante, andou.

Reportou ânsia, sensação esquisita e desejo de voltar ao normal. Relatou o tempo todo sonolência. Encontrava-se visivelmente com seu estado de consciência alterado, sendo que reportou que quando imaginava que os efeitos estavam diminuindo eles retornavam com intensidade surpreendente. Não conseguiu se alimentar.

Entre 10:55hrs e 11:25hrs, observou-se pico intenso: formigamento, frio, risos a todo instante (sem razão aparente). Reportou taquicardia, falta de ar, visão distorcida, sem coordenação motora normal, sem percepção de distância. Não sentia a boca (como se estivesse anestesiada), sensação de que os dentes haviam crescido e não cabiam na boca. Vontade de ficar quietinho. Ao fechar os olhos visualizava figuras geométricas coloridas. Não chegou a perder a consciência.

Às 11:30hrs a sonolência persistia, assim como a ânsia. Comentou sobre perda de noção de tempo e ausência total de fome.

Entre 12:30hrs e 14:30hrs ainda apresentava efeitos significativos: fraqueza, ausência de ânimo, sonolência, ânsia, falta de ar, com oscilação de picos de alta e baixa intensidade.

Às 15:00hrs conseguiu se alimentar de forma básica.

Às 16:30hrs ainda apresentava resquícios de efeito.

## **Voluntário 2**

Tomou toda a bebida de uma só vez, embora tenha reportado ser ruim de engolir.

Reportou grande vontade de dormir

Às 9:40hrs reportou sonolência intensa

Entre às 9:50hrs e às 11:30 o voluntário 2 permaneceu dormindo.

Comentou alteração na audição, como se a pressão interna tivesse aumentado dentro do ouvido.

Também comentou que a cabeça fica um pouco pesada, sendo que era comum observar o pescoço pendendo a todo instante.

Às 12:00hrs acordou bem melhor, porém ainda com efeitos.

Às 12:30hrs reporta sensação global experimentada bem mais tênue.

Às 16:30hrs comenta que tudo que restou foi muita fraqueza.

# DISCUSSÃO

## 5. DISCUSSÃO

A prática de consumo de plantas alucinógenas data de centenas de anos. A tradição de que tais plantas são um elo de ligação entre o homem e o divino vem sendo pregada através das gerações. O uso da ayahuasca e outras similares dentro do contexto religioso é bem mais recente e sua regulamentação legal, justifica aprofundamento dos estudos que envolvem sua prática. O aumento dos usuários é crescente e indeterminado. Nem mesmo as próprias seitas sabem ao certo o número real de membros que possui, o que torna o assunto ainda mais polêmico. Calcula-se que em 1997, apenas na América do Sul, o número de pessoas que faziam uso regular da ayahuasca chegaria a 15 mil (GOMES, 2008).

Dentro desse contexto, a ayahuasca ou chá de Santo Daime é apenas mais uma bebida preparada a partir da infusão de duas plantas: *Banisteriopsis caapi* e *Psychotria viridis*. Os principais alcalóides presentes na *B. caapi* são as  $\beta$ -carbolinas: harmina, harmalina e tetraidro-harmina, potentes inibidores da MAO. A *P. viridis* tem como principal alcalóide o DMT, que possui estrutura e efeitos análogos ao neurotransmissor serotonina. Através da administração via oral, o DMT é degradado pela enzima MAO-A, mas se administrada simultaneamente com as  $\beta$ -carbolinas, a degradação do DMT é impedida, possibilitando sua absorção e efeitos psicodélicos. As  $\beta$ -carbolinas, por si mesmas, também podem contribuir com os efeitos psicoativos da ayahuasca, bloqueando a MAO no cérebro e inibindo fracamente a recaptção de serotonina, que aumentariam os níveis do neurotransmissor na fenda sináptica. A ayahuasca de um lado é o fundamento das seitas religiosas e de outro o objeto de consumo para “viagens psicodélicas” de dependentes não adeptos da doutrina religiosa, de fácil acesso, baixo custo e poucas justificativas a qualquer pessoa ou entidade.

Apesar de o Brasil possuir diversas portarias regulamentando o comércio, transporte e o uso de substâncias psicoativas para os mais variados fins, a realidade é bem diferente do que se apresenta nas mesmas, sendo possível aquisição de vários precursores ou as próprias substâncias psicoativas sem maiores transtornos, em comércios, contrabandos, e até pela própria Internet, sem sair de casa. A ayahuasca não foge dessa realidade, sendo que suas plantas precursoras: *Banisteriopsis caapi* e *Psychotria viridis*, podem ser facilmente adquiridos a um custo



médio de R\$ 50,00 cada 100 g da planta desidratada, importada do Peru, conforme descrito na página da empresa fornecedora. (Disponível em <http://www.plantasenteogenas.com.br/loja/> Acesso: 20.05.09).

Embora existam hipóteses de que algumas seitas poderiam estar mascarando a verdadeira intenção de legitimar a ingestão de uma bebida alucinógena através da massificação de um culto religioso, através da revisão de trabalhos, o que fica claro é que os membros das seitas realmente acreditam que a utilização da bebida mudou sua história de vida e contribuiu e continua contribuindo favoravelmente para que eles se sintam pessoas mais completas em harmonia com si próprias e com seus semelhantes.

Existem relativamente poucos estudos acumulados no sentido de fornecer uma base científica consistente para afirmar que o uso da ayahuasca é seguro ou não, visando à determinação dos efeitos farmacocinéticos e farmacodinâmicos nos usuários, bem como métodos de extração e quantificação das substâncias ativas no plasma correlacionando a presença destas aos efeitos observados pós-ingestão. Essa falta de informação abre margem para especulações e controvérsias sobre os possíveis efeitos indesejados da exposição aos alcalóides presentes nessa bebida (MCKENNA, 2004).

No caso da ayahuasca é interessante comentar que todos os artigos científicos se referem ao preparo da bebida como uma infusão. De acordo com a definição, infusão é uma técnica extrativa que consiste em adicionar sobre uma determinada droga água fervente, mantendo ambos em contato e em recipiente fechado durante um certo intervalo de tempo. Por outro lado, decoção consiste na técnica extrativa que mantém um sólido em contato com um solvente (via de regra a água aquecida à ebulição) por certo período de tempo obtendo-se desse modo um decocto ou cozimento. Desta forma, como a ayahuasca consiste na fervura do cipó juntamente com as folhas, trata-se de uma decoção (PRISTA, 1983)

Inicialmente, para se estudar qualquer substância faz-se necessário possuir um padrão analítico fidedigno. Os padrões de cloridrato de harmina, cloridrato de harmalina, triptamina e difenidramina foram adquiridos de diferentes fornecedores, pois encontram-se disponíveis no mercado. Já no caso dos padrões de

dimetiltryptamina, dimetiltryptamina deuterada e tetraidro-harmina que não estão disponíveis comercialmente, foram necessários estudos para obtenção dos mesmos através de extração, purificação ou síntese em nosso laboratório, afim de que os testes pudessem ser conduzidos.

O processo de obtenção do padrão analítico da DMT fez parte de um estudo maior, no qual várias metodologias foram testadas até se optar pela que oferecia maior rendimento e facilidade de processo. Entre os métodos testados, estão a extração do alcalóide a partir da própria ayahuasca, síntese de DMT segundo HORNER *et al.* (1966) e síntese de DMT segundo GIUMANNINI *et al.* (1980).

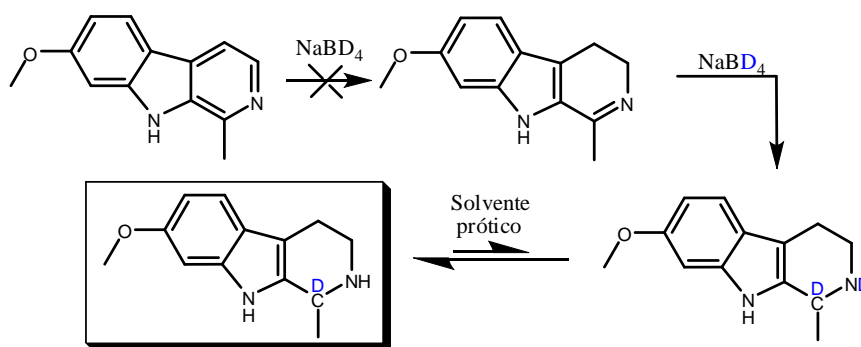
Segundo o método de YRITIA *et al.* (2002), o qual descreve a extração de DMT em plasma humano, na tentativa de reprodução da metodologia, plasma foi substituído por *ayahuasca* e as condições de análise foram adaptadas aos materiais e equipamentos que possuímos em nosso laboratório. Análises quantitativas do chá revelaram que 200 mL de *ayahuasca* possuem cerca de 50 mg de DMT (CALLAWAY *et al.*, 1996). Embora esta quantidade de alucinógeno pudesse ser suficiente para o início dos experimentos, verificou-se que fazer extração de DMT a partir de 200 mL da bebida é dificultada uma vez que, para se obter um bom rendimento, a extração deveria ser realizada em pequenos volumes. Na prática, a extração de DMT a partir do material bruto (*ayahuasca*) exigiu muito tempo, consumo de reagentes e forneceu uma quantidade relativamente pequena dessa substância. Além disso, no método padronizado utiliza-se tampão fosfato, o que não é o adequado em se tratando de sua utilização para HPLC, em virtude do resíduo (sal) gerado pelo tampão após evaporação, o que não acontece para solventes normais. O sal do tampão pode precipitar-se com o passar do tempo dentro do sistema, ocasionando aumento da pressão das bombas e conseqüentes prejuízos decorrentes do uso freqüente. Dessa forma, decidiu-se investir na síntese de DMT, que poderia fornecer um rendimento maior e quantidade de material suficiente para todo o período de estudo.

A seguir foi realizada a síntese de DMT a partir de triptamina, seguindo o procedimento proposto por HORNER *et al.* (1966). Nesse trabalho, o autor utilizava

excesso de agente metilante (iodometano) associado com um meio básico (hidróxido de sódio) para obtenção do puro sal quaternário de uma tio-triptamina, ou seja, ocorria uma trimetilação da amina primária. Assim, por modificação dessa técnica, num total de 12 procedimentos, os quais incluíram variação da base (carbonato de sódio), o agente metilante (dimetil-carbonato e dimetil-sulfato) e solventes (diclorometano e água), obtivemos diferentes produtos de síntese, analisados por espectrometria de massas tendo como resultado misturas de triptaminas mono, di, e trimetiladas. Além desses diversos subprodutos, também foi constatada a presença de triptamina, material de partida, sem que essa tivesse sofrido qualquer tipo de reação. Portanto, esse procedimento foi abandonado por apresentar pouca eficiência em seu rendimento.

Por fim, foi realizada a tentativa de obtenção da DMT através de modificação do método proposto por GIUMANINI *et. al.* que forneceu padrão relativamente puro e bom rendimento.

Em relação à síntese da DMT deuterada o processo pôde ser realizado com sucesso, pois utilizando-se o agente redutor tetraborohidreto de sódio deuterado foi possível inserir 6 deutérios nas posições dimetilaminas, produzindo-se DMT-D6, adequado para uso em análises por espectrometria de massas. Para as  $\beta$ -carbolinas, não foi possível a incorporação através de síntese química de isótopos estáveis que pudesse conduzir a um maior peso molecular, produzindo assim bons padrões internos para análise por espectrometria de massas. A redução seletiva de HRM que deveria conduzir a HRL não ocorre devido a este material de partida possuir um sistema estável (aromático). Em contrapartida, a reação química de redução de HRL conduz a THH de forma regioseletiva. O problema aqui é que o produto formado possui apenas 1 unidade de massa atômica (u.m.a.) a mais (por incorporação de apenas um átomo de deutério). O átomo de deutério ligado diretamente ao nitrogênio (Figura 18) é trocado rapidamente com os hidrogênios de solventes próticos. Assim, este produto de síntese não foi utilizado como padrão interno, pois apenas 1 u.m.a. não é o suficiente para uma boa separação dos sinais pelo analisador de massas e por conseqüência não é possível diferenciá-los. Preconiza-se que para se utilizar uma substância como padrão isotopicamente marcados são necessárias no mínimo 3 u.m.a. a mais.



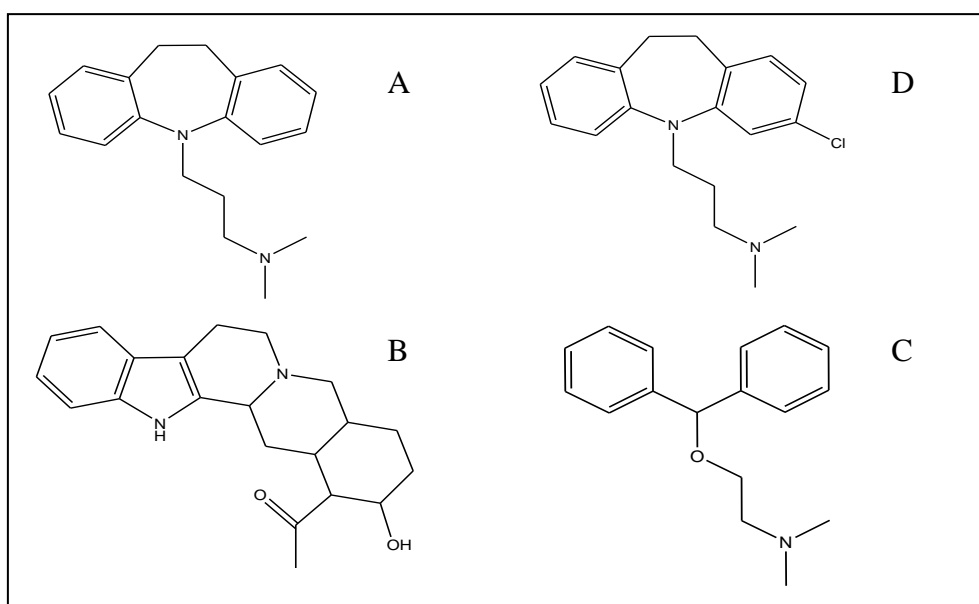
**FIGURA 18:** Síntese da  $\beta$ -carbolicas deuteradas: harmina (HRM), harmalina (HRL) e tetraidro-harmina (THH), sob a ação de agente redutor deuterado ( $\text{NaBD}_4$ )

Métodos para determinação dos alcalóides presentes na ayahuasca são escassos na literatura. MCKENNA *et al.* (1984) propuseram um método na qual a ayahuasca é diluída com metanol para precipitação de proteínas e outros componentes, filtrada e uma alíquota injetada diretamente no equipamento de cromatografia líquida (HPLC). Esse procedimento é, entretanto, impraticável para análise por cromatografia gasosa (GC), em virtude da presença de água danificar o equipamento.

Desta forma, foi realizado teste com extração líquido-líquido, adaptando-se o método descrito por YRITIA *et al.* (2002) no qual foram determinados os alcalóides da ayahuasca em plasma humano, Nas condições cromatográficas padronizadas, foi possível separar os compostos de interesse com boa resolução. Entretanto, a extração líquido-líquido demonstrou ser eficiente apenas para a DMT, não apresentando bons resultados para a extração das  $\beta$ -carbolicas (harmina, harmalina e tetraidro-harmina). Outros solventes, como éter dietílico e acetato de etila, também foram avaliados, não fornecendo resultados satisfatórios.

Por fim, a extração em fase sólida (SPE) utilizando cartucho C18 foi o método escolhido para extração dos alcalóides presentes no chá, pois demonstrou bons resultados para determinação simultânea de DMT e  $\beta$ -carbolicas, sendo tal resultado inédito até o momento. A partir da análise de adicionados dos padrões em água, puderam-se recuperar os analitos na extração em um método que se mostrou linear, rápido, sensível e de fácil execução. O trabalho foi publicado no *Phytochemical*

*Analysis*, cuja cópia está em ANEXO IV. Através do tratamento da amostra por SPE, nenhum interferente foi verificado na região dos analitos de interesse. Entretanto, nos testes iniciais, foi verificado que o método não apresentava boa reprodutibilidade (CV >20%), utilizando como padrão interno a imipramina para todos os analitos. Além disso, seu tempo de retenção era bastante próximo da tetraidro-harmina e harmalina (13,410 min). A seguir foi feita uma tentativa com clomipramina que mostrou-se um padrão adequado para as  $\beta$ -carbolinas, mas não para a DMT. A ioimbina, de estrutura bastante similar às  $\beta$ -carbolinas, utilizada como padrão interno no método proposto por YRITIA *et al.* (2002), não é muito volátil, apresentando tempo de retenção muito elevado nas condições padronizadas. Mesmo com a aplicação de altas temperaturas no final da corrida cromatográfica, não foi possível obter tempo de retenção próximo das substâncias de interesse. Desta forma, o método iria ficar demasiadamente longo (mais de 30 min), inviabilizando seu uso como padrão interno. Foram então iniciados testes com a difenidramina para verificar a viabilidade da sua utilização e constatou-se que ela apresentava boa precisão (CV<10%) e boa linearidade tanto em relação à DMT, como em relação as  $\beta$ -carbolinas, sendo ela mantida como único padrão interno para ambas as classes. Na Figura 19, é possível se verificar as estruturas químicas das substâncias para as quais foi feita a tentativa de utilização como padrão interno.



**FIGURA 19:** Estruturas químicas das substâncias avaliadas como padrão interno: (A) imipramina, (B) ioimbina, (C) difenidramina e (D) clomipramina.

Durante os trabalhos também foi verificado que a amostra de ayahuasca possuía um odor característico da presença de etanol. Desta forma, a fim de se avaliar se a quantidade de etanol na bebida poderia influenciar nos estudos, foi feito doseamento de etanol. Para tanto, adaptou-se o método de *headspace* descrito por YONAMINE *et al.* (2003), que determinou etanol presente em saliva. Em análises realizadas em triplicata, foi verificado que o conteúdo alcoólico era de 0,37%, valor bastante baixo, improvável de causar influência nos estudos. De fato, a legislação brasileira de acordo com o Decreto 6117 de 22 de maio de 2007, que aprovou a Política Nacional relacionada ao álcool rege: “é considerada bebida alcoólica aquela que contiver 0,5 grau Gay-Lussac ou mais de concentração, incluindo-se aí bebidas destiladas, fermentadas e outras preparações, como mistura de refrigerantes e destilados, além de preparações farmacêuticas que contenham teor alcoólico igual ou acima de 0,5 grau Gay-Lussac.” Da mesma forma, nenhum outro componente volátil pôde ser detectado na amostra.

O processo de determinação dos alcalóides da ayahuasca e validação do método teve alguns contratempos principalmente em virtude do fato da HRL com o passar do tempo se oxidar em HRM, sendo portanto as duas  $\beta$ -carbolinas interconversíveis (OTT, 1999; MANSKE, 1926). A frequência desse processo ou mesmo as causas dele ainda necessita de maiores estudos. Dessa forma, a determinação e o doseamento passaram por uma série de alterações até que tal informação se tornasse conhecida e passasse a ser considerada em todas as análises.

Embora fosse o intuito verificar a possibilidade de utilizar técnicas mais recentes de preparação de amostras biológicas como a microextração em fase sólida (SPME) e a microextração em fase líquida (LPME), pois a grande tendência em análises toxicológicas é a miniaturização de técnicas analíticas de preparação de amostras, visando maior simplicidade e praticidade, menor manipulação da amostra e pouca ou nenhuma necessidade de uso de solventes orgânicos (OLIVEIRA *et al.*, 2007), os testes iniciais para ambas as técnicas não foram satisfatórios.

As amostras de alcalóides do plasma quando submetidas à SPME não forneceram boa recuperação dos analitos com a utilização da fibra de polidimetilsiloxano (PDMS) por imersão direta da amostra diluída em meio alcalino ou mesmo por *headspace*.

Por outro lado, a aplicação da LPME, para extração dos alcalóides no plasma, inicialmente obteve bons resultados. Foi estabelecido o seguinte procedimento: em um *vial* de 2 mL, 0,5 ml de sangue foi adicionado com uma solução alcalina de NaOH (pH=12). Em seguida foi introduzida a fibra de LPME (cerca de 7 cm de fibra) na solução da amostra. A fibra foi recoberta com solvente orgânico em seus poros, após alguns testes optou-se pelo decanol e preenchida com cerca de 20  $\mu$ L de solução aceptora de ácido clorídrico 0,1 M (sistema trifásico). Para extração de substâncias de caráter básico, como no caso dos alcalóides da ayahuasca, o meio da amostra foi mantido alcalino para manter as substâncias na forma não-ionizada. Nessa forma, elas são capazes de atravessar a camada orgânica dos poros da fibra e entrar em contato com o líquido acceptor ácido que ioniza as moléculas. Assim, o líquido acceptor funciona como armadilha, retendo e concentrando os analitos. Esse sistema foi submetido à ultrassom para aumentar a velocidade de transferência dos analitos para a fase extratora. Após o período de extração, o líquido acceptor foi retirado com a micro-seringa, evaporado o resíduo solubilizado e dissolvido com solvente orgânico (metanol) para injeção no equipamento de cromatografia em fase gasosa (PEDERSEN-BJERGAARD & RASMUSSEN, 2005).

Dando continuidade aos estudos com LPME, alguns solventes foram avaliados, dentre os quais octanol e decanol. O octanol se mostrou eficiente para extração em água, mas há certa incompatibilidade com amostra de plasma. De fato, essa incompatibilidade é reportada na literatura (UGLAND *et al.*, 2003). O decanol se mostrou ser o solvente mais apropriado para ser empregado como fase intermediária.

A seguir iniciou-se a otimização do método com estudos relativos ao efeito do pH, solvatação, quantidade máxima de amostra e tempo de extração. O resultado obtido com os testes de efeito do pH sobre a extração foi que, para todos os analitos, o pH ótimo para a extração foi o 12. Analisamos a quantidade máxima de amostra na qual não houvesse muitas interferências das outras substâncias do sangue. Para THH e HRL a quantidade máxima de amostra foi de 0,2 mL. Para DMT e HRM, as quantidades de amostras não mostraram muita diferença, logo a melhor quantidade de amostra é de 0,2 mL. Como os analitos estão em solvente aquoso, esses podem estar solvatados, o que seria prejudicial para a micro-extração. Para melhorar o desempenho, quantidades conhecidas de NaCl foram adicionadas nas

amostras para promover o efeito *salting out*. O resultado obtido foi que, exceto para HRM, os valores não foram satisfatórios em quaisquer quantidades de sal adicionadas. Portanto, a melhor condição é a ausência de sal na amostra. O último parâmetro avaliado foi o tempo no qual as amostras ficaram submetidas à extração. Os tempos analisados foram os de 30, 45 e 60 minutos. Para todos os alcalóides o maior tempo de extração foi prejudicial à análise, fato que não foi observado para a DMT, que obteve um tempo ótimo de 45 minutos. Assim, o tempo de extração escolhido foi o de 30 minutos.

Finalizada a otimização, a próxima etapa foi a verificação da precisão do método. Nos ensaios iniciais, observou-se que o padrão interno difenidramina utilizado no método desenvolvido para determinação dos alcalóides em ayahuasca por SPE não se mostrou adequado para o método para determinação dos mesmos alcalóides em sangue por LPME.

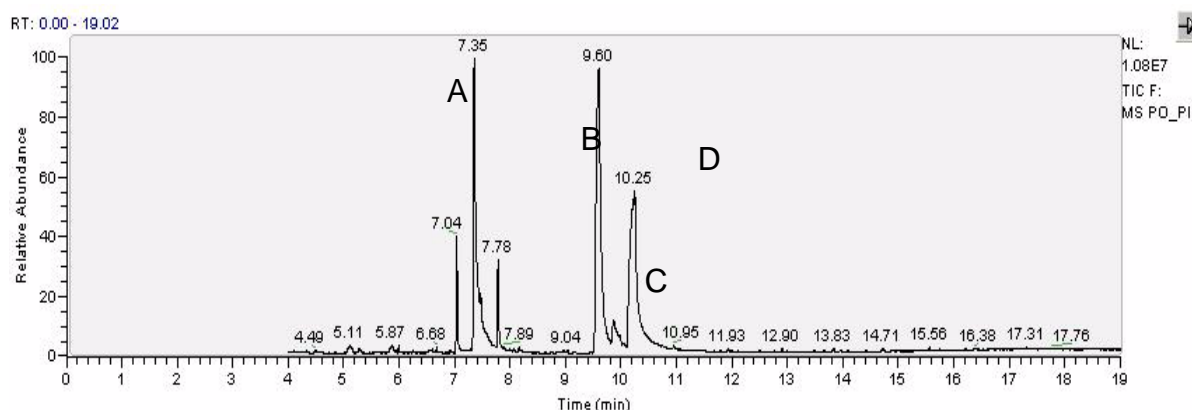
De fato, é de conhecimento que a LPME não é uma técnica que normalmente apresenta boa reprodutibilidade se padrões internos deuterados não são utilizados. Como os padrões internos deuterados dos analitos de interesse não são disponíveis comercialmente, a alternativa encontrada foi obter pelo menos dois deles, a DMT e a THH deuterada pelos mesmos processos de síntese descritos para a DMT e para a THH, porém, com a utilização de tetraboridreto de sódio deuterado ( $\text{NaBD}_4$ ).

Com isso almejou-se um método com maior precisão, utilizando-se também a cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS), almejando-se também maior seletividade e sensibilidade.

Durante os experimentos analíticos, devido à queda de um raio, o equipamento GC-MS necessitou seguir para a manutenção, ficando inutilizável por algum tempo. Inexplicavelmente, após o conserto e a retomada dos trabalhos analíticos com o mesmo, verificou-se que, sob condições semelhantes utilizadas no método para determinação dos alcalóides em ayahuasca por GC-NPD descrito no trabalho publicado (ANEXO IV), surpreendentemente não foram obtidos os mesmos resultados quanto à resolução cromatográfica, principalmente em relação às  $\beta$ -carbolinas, conforme pode ser visualizado na Figura 20.



Vários parâmetros foram investigados para a solução do problema como programação da temperatura do forno, fluxo do gás de arraste, outras colunas cromatográficas, instalação de pré-coluna, modo de injeção (*splitless w/surge*) em diversas pressões e tempos, mas não foi bem sucedido. Os resultados, embora um pouco melhores, não foram satisfatórios.



**FIGURA 20** – Cromatograma GC-MS obtido com a injeção direta dos principais alcalóides da ayahuasca: (A) dimetilriptamina; (B) tetraidro-harmina; (C) harmalina e (D) harmina.

Em paralelo, iniciaram-se os testes para desenvolvimento de método por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa (LC-MS), que após alguns ensaios, possibilitou a separação dos compostos de interesse.

O grande desafio no processo de validação do método para determinação dos alcalóides no plasma, foi se obter o melhor processo de detecção, uma vez que a princípio constatou-se que no CG-MS, obtinha-se boa detecção para o DMT, mas detecção imprecisa para as  $\beta$ -carbolinas. E, ao contrário, no LC-MS, obtinha-se boa detecção para as  $\beta$ -carbolinas e detecção imprecisa para o DMT. Após várias tentativas, foram estabelecidas condições cromatográficas ideais e o processo de otimização do método foi concluído no LC-MS.

Uma vez estabelecidas as condições ideais no LC-MS, a etapa seguinte foi avaliar a precisão do aparelho. Para isso foram testadas as concentrações de 1, 2 e 5 ng/mL. Tais análises tiveram boa resposta, e aparentemente o LC-MS é o

equipamento que apresenta grande potencial para detecção simultânea dos alcalóides no plasma. No entanto, devido à impossibilidade de novas análises no mesmo, em virtude da grande demanda tais análises tiveram que ser interrompidas.

Foi conduzido um novo teste utilizando a SPE com detecção através da cromatografia gasosa com detector de nitrogênio e fósforo - GC-NPD. O preparo da amostra e processo de extração foi exatamente igual ao descrito para extração dos alcalóides presentes no chá. No entanto, os resultados obtidos não foram os esperados. Visualiza-se no cromatograma um pico desproporcional de substância desconhecida. As análises foram repetidas três vezes, obtendo-se os mesmos resultados. Para justificar tal ocorrência uma das hipóteses levantadas foi a presença de algum interferente no plasma. Dessa forma, foi coletado sangue total de dois voluntários, que foram previamente questionados em relação ao consumo de qualquer tipo de substância diferente, e que foram considerados como um plasma branco. Surpreendentemente o pico de dimensão desproporcional e origem desconhecida manteve-se.

Nova tentativa foi realizada, substituindo-se o tampão borato por solução salina à 0,9%, a exemplo do que YRITIA *et al.* (2002) realizaram em seu trabalho e novamente ocorreu aparecimento do pico em tempos de retenção que variaram de 8,77 à 9,21. Ao se realizar exatamente o mesmo procedimento sem a presença do plasma, o pico desconhecido não aparece, corroborando a hipótese de realmente ser algum interferente do plasma.

Além dessas tentativas também foi testada a extração utilizando a coluna Bond elut 130M mg, Varian®, coluna mista, ótima para detecção de benzoilecgonina, metabólito da cocaína que possui características apolares. Como as  $\beta$ -carbolinas possuem um volumoso grupo apolar, provavelmente ficariam retidas. Já no caso da DMT que possui estrutura mais similar a das anfetaminas, provavelmente essa coluna não apresentaria bons resultados. Os resultados não foram promissores. Observou-se um pico desproporcional em tempo de retenção igual a 6,94. Foram conduzidos novos testes abaixando o pH de 7,0 para 5,0 e também suprimindo a etapa de lavagem com metanol, porém os resultados obtidos não melhoraram.

Procedimentos de troca de coluna, inserção de pré-coluna, troca de liner, limpeza do equipamento, alterações no modo de injeção (split pulsed, splitless, pulse splitless) foram tentados exaustivamente sem melhores resultados.

Também foi realizada uma tentativa utilizando-se soro ao invés de plasma e manteve-se a presença do “pico fantasma” em tempo de retenção igual à 8,690, pico este que aparece inclusive no branco. Não foi possível concluir qual poderia ser esse interferente, no entanto, por falta de outros recursos, foi considerado que SPE para detecção dos alcalóides em plasma com utilização de equipamento de cromatografia gasosa e detector de nitrogênio e fósforo, não produz bons resultados.

A seguir, uma vez que não existia disponibilidade do uso do LC-MS e as análises por SPE no GC-NPD não surtiram efeitos, os esforços foram concentrados na determinação da DMT. Foi realizada extração líquido-líquido utilizando-se no preparo da amostra 1 mL plasma adicionado de 1 mL de solução saturada de cloreto de sódio e 500 µL de solução de hidróxido de potássio. A extração foi feita com 5 mL N-hexano por 20 minutos sob agitação constante e a fase orgânica foi separada por centrifugação a 3000 rpm por 5 minutos. Evaporado sob fluxo de nitrogênio e injetado no GC-MS. Num primeiro momento a DMT foi detectada nas concentrações desejadas. Ao se iniciar a validação do método, primeiramente avaliamos o parâmetro da recuperação, referencial baixo. Como os resultados obtidos não foram promissores, alteramos os testes para recuperação referencial alto, avaliando simultaneamente a sensibilidade do equipamento. Como resultados, mesmo para a recuperação referencial alto, foram obtidos valores muito baixos, da ordem de 45%, quando os esperados deveriam se encontrar próximos a 100%, conforme preconizado pela ANVISA, na Resolução RE nº 899 de 29 de maio de 2003. O método de extração da DMT foi baseado no trabalho de YRITIA *et al.* (2002 que utilizava N-pentano e não N-hexano no experimento. Atribuindo os maus resultados a troca, procedemos na aquisição de N-pentano. No entanto, surpreendentemente os maus resultados permaneceram. Também foram tentadas as seguintes alterações: troca da solução saturada de cloreto de sódio e hidróxido de potássio por solução tampão pH=9,0, inserção de secagem da amostra em sulfato de sódio anidro, evaporação em frascos silanizados, troca da solução de cloreto de sódio saturada por cloreto de sódio pó 300 mg, sendo que o percentual de recuperação aumentou da ordem de 40% para 45%,

Os testes com LPME foram retomados. O processo foi realizado em triplicata e os resultados também não foram os esperados. Através dessa extração foi possível detectar valores da ordem de grandeza de 1000 ng/mL, quando na realidade para avaliação da presença dos alcalóides no plasma deseja-se que o método determine concentrações de 1 ng/mL. Dessa forma frente à baixa sensibilidade do método, o mesmo foi descartado.

Através da ingestão da ayahuasca pelos dois voluntários foi possível observar que grande parte dos efeitos relatados na literatura foram confirmados, tais como sonolência, sensação de torpor, frio, ânsia e mal estar gastro-intestinal, taquicardia, noção distorcida do tempo, alteração da percepção de profundidade, visão de figuras geométricas coloridas. Também foi possível concluir que a susceptibilidade individual é extremamente presente uma vez que o voluntário 1 que ingeriu a bebida primeiro teve efeitos subjetivos muito maiores que o voluntário 2 que ingeriu a bebida posteriormente, não só em relação a duração do efeito como também em relação a intensidade dos mesmos.

Frente ao progressivo aumento de usuários da ayahuasca seja com fins recreacionais ou não, é fundamental que esteja disponível método eficiente para detecção dos alcalóides presentes na bebida e no plasma. Através desse trabalho, foi possível disponibilizar método rápido, eficiente e seguro para detecção dos alcalóides na bebida. Em relação ao plasma, faz-se necessário maiores esforços no intuito de validar método viável.

CONCLUSÃO

## 6. CONCLUSÕES

- Foi elaborado e validado método analítico para determinação dos teores dos principais alcalóides: DMT, THH, HRL e HRM, presentes na ayahuasca
- Através desse trabalho foi possível concluir que a detecção simultânea dos principais alcalóides presentes no plasma utilizando-se tanto SPE, quanto LPME e detecção através de GC-NPD não apresenta bons resultados.
- O desenvolvimento de método para detecção dos principais alcalóides em plasma através de LC-MS possui alto potencial de sucesso, embora por motivos logísticos não tenha sido possível concluir a validação do mesmo.
- Os principais efeitos subjetivos relatados em diversos trabalhos puderam ser confirmados através da observação cuidadosa e relato de sensações de dois voluntários que ingeriram a bebida.

# REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMAD, A., *et. al.* Study of the in vitro antimicrobial activity of harmine, harmalina and their derivatives. *Journal of Ethnopharmacology*. v.35 p.289-294, 1992.

ALLEN, J.R.F, HOLMESTEDT, B. The simple  $\beta$ -carboline alkaloids. *Phytochemistry* v.19, p.1573-1582, 1980.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RE 899, de 29 de maio de 2003. Guia para validação de Métodos Analíticos. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br>. Acesso em 16 de nov. 2009.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Decreto 6117, de 22 de maio de 2007. Aprova a política nacional sobre o álcool, dispõe sobre as medidas para redução do uso indevido de álcool e sua associação com a violência e criminalidade, e dá outras providências. Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/\\_Ato2007-2010/2007/Decreto/D6117.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2007-2010/2007/Decreto/D6117.htm). Acesso em 22 de dez. 2009.

ARANHA, C. TRAVAINÉ, G., CORREA, M.A. Aspectos botânicos e taxonômicos das plantas *Banisteriopsis sp* e *Psycotria sp*. Comunicação apresentada no 1º Congresso em Saúde. Centro de Estudos Médicos União do Vegetal, São Paulo, Brasil, 30/mai/02junho, 1991.

BARBANOJ, M.J. *et. al.* Daytime Ayahuasca administration modulates REM and slow-wave sleep in healthy volunteers. *Psychopharmacology* v.196, p.315-326, 2008.



BLOOM, F.J., BARCHUS, SANDLER, M., E. USDIN (org.).  $\beta$ -carbolines and Tetrahydroisoquinolines. Alan R. Liss, New York, 1982.

BRITO, G.S. Farmacologia humana da hoasca (chá preparado de plantas alucinógenas usado em contexto ritual no Brasil). In Mercado de Letras, Edições e Livraria Ltda. O uso ritual da ayahuasca. Campinas. p. 623-671, 2004.

BUSH, E.S., MAYER, S.E. Agonistas e antagonistas dos receptores da 5-hidroxitriptamina (Serotonina). In HARDMAN, J.G.; LIMBERD, L.E.; GILMAN, A.G.; GOODMAN, L.S. Goodman & Gilman As bases farmacológicas da terapêutica 10.ed. New York: MacGraw Hill, 2003. p.205-220.

CALLAWAY, J.C., AIRASKSINEN, M. M., MCKENNA, D.J. et. al. Platelet serotonin uptake sites increase in drinkers of ayahuasca. *Psychopharmacology*, v.116, p.385-387, 1994.

CALLAWAY, J.C., RAYMON, L.P., HEARN, W.L. MACKENNA, D.J., GROB, C.S., BRITO G.S., MASH, D.C. Quantitation of N,N-dimethyltryptamine and harmala alkaloids in human plasma after oral dosing with ayahuasca. *J. Anal. Toxicol.*, v.20, p.492-497, 1996.

CALLAWAY, J.C.; GROB, C.S. Ayahuasca Preparations and Serotonin Reuptake Inhibitors: A Potential Combination for Severe Adverse Interactions. *Journal of Psychoactive Drugs*, v.30, n.4, p.367-369, 1998.

CALLAWAY *et. al.* Pharmacokinetics of Hoasca alkaloids in healthy humans. *Journal of Ethnopharmacology*, v.65, p.243-256, 1999.

CALLAWAY, J.C. Fast and Slow Metabolizers of Hoasca. *Journal of Psychoactive Drugs*, v.37, n.2, p.157-161, 2005a.

CALLAWAY, J.C.; BRITO, G.S.; NEVES, E.S. Phytochemical Analyses of *Banisteriopsis Caapi* and *Psychotria Viridis*. *Journal of Psychoactive Drugs*, v.37, n.2, p.145-150, 2005b.

CALLAWAY, J.C., GROB, C.S., MCKENNA, D.J., NICHOLS, D.E., SHULGIN, A., TUPPER, K.W. A demand for clarity regarding a case report on the ingestion of 5-methoxy-*N,N*-dimethyltryptamine (5-MeO-DMT) in an Ayahuasca preparation. *J. Anal. Toxicol.*, v.29, p.406-407, 2006.

CAZENAVE, S.O.S. *Banisteriopsis caapi*: ação alucinógena e uso ritual. *Revista Psiq. Clínica*. V.27, n.1, p.1-6, 2000.

CEMIN, A. Ordem, xamanismo e dádiva: o poder do Santo Daime. {Tese} São Paulo:Tese de doutorado em Antropologia Social, USP, 1998.

CHAUÍ, M. *Brasil: Mito fundador e sociedade autoritária*, Fundação Perseu Abramo, São Paulo, 2000. 104p.

Conselho Nacional Antidrogas Brasil CONAD. Resolução n.4, de 04 de novembro de 2004. Diário Oficial da União (DOU) da República Federativa do Brasil, 8 de novembro de 2004.

COSTA, M.C.M., FIGUEIREDO, M.C., CAZENAVE, S.O.S. Ayahuasca: Uma abordagem toxicológica do uso ritualístico. *Revista Psi. Clin.*, v.32, n.6, p.310-318, 2005.

Disponível em <http://www.plantasenteogenas.com.br/loja/> Acesso: 20.05.09).

DOERING-SILVEIRA, E. *et. al.* Ayahuasca in Adolescence: A Neuropsychological Assessment. *Journal of Psychoactive Drugs*. v.37, n.2, p.123-128, 2005.

FRANCO, M.C.P., CONCEIÇÃO, O.S. Breves revelações sobre a ayahuasca. O uso do chá entre os seringueiros do Alto Juruá. In: Mercado de Letras, Edições e Livraria Ltda. *O uso ritual da ayahuasca*. Campinas, p. 201-225, 2004.

FRECSKA, E. Therapeutic guidelines: Dangers and contra-indications in therapeutic applications of hallucinogens. In *Psychedelic Therapy*. Eds: Roberts, T. and Winkelman, M. Westport, CT: Praeger, 2007.

FRECSKA, E. Ayahuasca versus violence – A case report. *Neuropsychofarmacologia Hungarica*. X/2, p.95-98, 2008.

GABLE, R.S. Risk assessment of ritual use of oral dimethyltryptamine (DMT) and harmala alkaloids. *Addiction*. v.102, p.24-34, 2006.

GAMBELUNGHE, C., ARONI, K., ROSSI, R., MORETTI, L., BACCI, M. Identification of *N,N*-dimethyltryptamine and  $\beta$ -carbolines in psychotropic ayahuasca beverage. *Biomed Chromatography*, v.22, p.1056-1059, 2008.

GIUMANINI A.G.; CHIAVARI, G.; MUSIANI, M.M.; ROSSI, P. *N*-Permethylation of Primary and Secondary Aromatic Amines *Synthesis*, p.743-745, 1980.

GOMES, M.M. Oxidação de Dimetiltriptamina (DMT) e dietilamina do ácido lisérgico (LSD) por peroxidases: uma possível rota de metabolização. São Paulo, 2008. 102p. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.

GOULART, S.L. O contexto de surgimento do culto do Santo Daime: formação da comunidade e do calendário ritual. In: Mercado de Letras, Edições e Livraria Ltda. *O uso ritual da ayahuasca*. Campinas, 2004. 277-301.

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, T.C., STRASSMAN, R.J., BOONE, K.B. Human Psychopharmacology Of Hoasca, A Plant Hallucinogen Used in Ritual Context in Brazil. *J. Nerv. Ment. Dis.*, v.184, n.2, p86-94, 1996.

HORNER, J. K.; SKINNER, W. A. *Canadian Journal of Chemistry*, v.44, p.315-319, 1966.

HOFFMAN, B.B., TAYLOR, P. Neurotransmissão. In HARDMAN, J.G.; LIMBERD, L.E.; GILMAN, A.G.; GOODMAN, L.S. Goodman & Gilman As bases farmacológicas da terapêutica 10.ed. New York: MacGraw Hill, 2003. p.89-117.

JACOBS, B. How Hallucinogenic Drugs work. *American Scientist*. v.75, p.115-118, 1987.

KATZUNG, B.G. *Farmacologia Básica e Clínica*. 6ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1998. 1046p.

KRAKOWSKI, M. Violence and Serotonin: Influence of impulse control, affect regulation, and social functioning. *The Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences*. v.15, p. 294-305, 2003.

LABATE, B.C., ARAÚJO, W. S. *O uso ritual da Ayahuasca*. 2ª ed. Campinas: Mercado de Letras Edições e Livraria Ltda.; 2004. 735p.

LABIGALINE, E. J. O uso de Ayahuasca em um contexto religioso por ex-dependentes de álcool. (Tese) São Paulo: Universidade Federal de São Paulo/Escola Paulista de Medicina; 1998.

LAING, R. R., SIEGEL, J. A. Hallucinogens A Forensic Drug Handbook. 1ª ed. Academic Press; 2003. 290p.

LUNA, L.E. Vegetalismo: Shamanism among the mestizo population of the Peruvian Amazon. Estocolmo, Almqvist and Wiksell International, 1986.

MCKENNA, D., TOWERS, G.H.N., ABBOTT, F. Monoamino Oxidase inhibitors in South American Hallucinogenic Plants: Tryptamine and  $\beta$ -Carboline constituents of Ayahuasca. *Journal of Ethnopharmacology* v.10, p.195-223, 1984.

MCKENNA, D.J., CALLAWAY, J.C., GROB, C.S. The Scientific Investigation of Ayahuasca: A Review of Past and Current Research. *The Heffer Review of Psychedelic Reseach*, v.1, p.65-76, 1998.

MCKENNA, D. Clinical investigations of the therapeutic potential of ayahuasca: rationale and regulatory challenges. *Pharmacology & Therapeutics*. v.102, p.111-129, 2004.

MELCHIOR, C., COLLINS, M. A. The route and significance of endogenous synthesis of alkaloids in animals. *CRC Critical Review in Toxicology*. v.9.p.313-356, 1982.

NARANJO, C. Psychotropic properties of the harmala alkaloids in D.H.Efron B. *Ethnopharmacologic Search for Psychoactive Drugs* U.S. Public Health Service Publication p. 1645, 1967.

OLIVEIRA, C.D.R., ROEHSIG, M., ALMEIDA, R.M., ROCHA, W.L., YONAMINE, M. Recent advances in chromatographic methods to detect drugs of abuse in alternative biological matrices. *Current Pharmaceutical Analysis*, v. 3, p. 95-109,2007.

OTT, J. Pharmahuasca: Human Pharmacology of oral DMT Plus Harmine. *Journal of Psychoactive Drugs*. v.31, n.2, p.171-177, 1999.

- PEDERSEN-BJERGAARD, S; RASMUSSEN, K.E. Bioanalysis of drugs by liquid-phase microextraction coupled to separation techniques. *J. Chromatogr. B*, 817, p.3-12, 2005.
- PELAEZ, M. C. Santo Daime, transcendência e cura. Interpretações sobre as possibilidades terapêuticas da bebida ritual. In: MERCADO DE LETRAS, EDIÇÕES E LIVRARIA LTDA. O uso ritual da ayahuasca. 1a. ed., Campinas, p.473-491, 2004.
- PIRES, A.P.S. *et. al.* Gas Chromatographic Analysis of Dimethyltryptamine and  $\beta$ -Carboline alkaloids in Ayahuasca, an Amazonian Psychoactive Plant Beverage. *Phytochemical Analysis*. v.20, p.149-153, 2009.
- PRISTA, L.N.; ALVES, A.C.; MORGADO, R. Técnica Farmacêutica e Farmácia Galênica. 3ª. Ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, v.1 p.403, 1983.
- RIBA, J. *et. al.* Subjective effects and tolerability of the South American psychoactive beverage Ayahuasca in healthy volunteers. *Psychopharmacology*. v.154, p.85-95, 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. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, v. 306, p.73-83, 2003.
- RIBA, J. BARBANOJ, M.J. Bringing ayahuasca to the clinical research laboratory. *J. Psychoactive Drugs*. v.37, p.219-29, 2005.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C.B.G.; COLLINS, C.H.; JARDIM, I.C.S.F.; MELLO, L.F.C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. *Química Nova*, São Paulo, v.27, n.5, p.771-780, 2004.

SANTOS, R.G., FERNANDEZ, J.L., STRASSMAN, R.J., MOTTA, V., CRUZ, A.P.M. Effects of ayahuasca on psychometric measures of anxiety, panic-like and hopelessness in Santo Daime members. *Journal of Ethnopharmacology*. v.112, p.507-513, 2007.

SHANON, B. Os conteúdos das visões da Ayahuasca. *MANA*. v.9, n.2, p.109-152, 2003.

SKLEROV, J., LEVINE, B., MOORE, K.A., KING, T. FOWLER, D. A fatal intoxication following the ingestion of 5-methoxy-*N,N*-dimethyltryptamine in an ayahuasca preparation. *Journal of Analytical toxicology*. v.29, p.838-841, 2005.

SMITH, R.L., CANTON, H., BARRET, R.J., SANDERS-BUSH, E. Agonist properties of *N,N*-dimethyltryptamine at 5-HT<sub>2A</sub> and 5-HT<sub>2C</sub> serotonin receptors. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, v.61, n.3, p.323-330, 1998.

STRASSMAN, R.J., QUALLS, C.R., BERG, L.M. Differential tolerance to biological and subjective effects of four closely spaced doses of *N,N*-Dimethyltryptamine in humans. *Biological Psychiatry*. v.39. p.784-795, 1996.

THOMPSON, A.C., NICOLLIER, G.F., POPE, D.F., Indolealkylamines of *Desmanthus illinoensis* and their growth inhibition activity. *J. Agric. Food Chem.*, v.35, p.301-305, 1987.



TOPPING, D.M. Ayahuasca and cancer: one man's experience. MAPS Newsletter. V.8, n.3, p.22-26,1998 Disponível em: <<http://www.maps.org>>. Acesso em 15.04.2009.

UGLAND, H.G.; KROGH, M.; REUBSAET, J.L.E.; J. Chromatography B: Anal. Technol. Biomed. Life. Sci. 2003, 798, 127.

VORCE, S.P., SKLEROV, J.H. A general screening and confirmation approach to the analysis of designer tryptamines and phenethylamines in blood and urine using GC-EI-MS and HPLC-electrospray-MS. *J Anal Toxicol.*, v.28, n.6, p.407-10, 2004.

YONAMINE, M.; TAWIL, N.; MOREAU, R.L.M.; SILVA, O.A.J. *Chromatogr. B.*, v.789, p.73-78, 2003.

YRITIA, M., *et. al.* Determination of *N,N*-dimethyltryptamine and  $\beta$ -carboline alkaloids in human plasma following oral administration of Ayahuasca. *Journal of Chromatography B.* v.779, p. 271-281, 2002.

YU, A. M., *et. al.* Contribution of individual cytochrome p450 isozymes to the demethylation of the psychotropic beta-carboline alkaloids harmaline and harmine. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* . v.305, n.1, p.315-322, 2003.

ANEXOS

**ANEXO I****Carta de aprovação do Comitê de Ética****UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**Faculdade de Ciências Farmacêuticas  
Comitê de Ética em Pesquisa - CEP

Ofício CEP nº 0167/2005

São Paulo, 13 de dezembro de 2005.

Ilmo(a). Sr(a).  
Prof. Mauricio Yonamine  
FBC

Prezado(a) Senhor(a),

Vimos informar que o Comitê de Ética em Pesquisa da FCF/USP, em reunião realizada em 28 de novembro de 2005, **APROVOU** o projeto “Estudos de farmacocinética dos alcalóides de ayahuasca” (Protocolo CEP nº 331) apresentado por Vossa Senhoria.

Lembramos que após a execução de 50% do cronograma do projeto, deverá ser apresentado um relatório parcial, de acordo com o Artigo 18 – item C, da Portaria FCF-111/97.

Atenciosamente,

**Prof.ª Dr.ª Valentina Porta**  
Coordenadora do Comitê de Ética  
em Pesquisa da FCF/USP

## ANEXO II

### Carta de aceite da Unidade Mista de Saúde de Capela do Alto



#### PREFEITURA MUNICIPAL DE CAPELA DO ALTO

#### UNIDADE MISTA DE SAÚDE

PRAÇA SÃO FRANCISCO Nº 26 – CENTRO – CEP 18.195-000 – CGC 46.634.077/0001-14

FONE (015) 3267-8800

Prezados Senhores

Venho por meio desta comunicar o aceite de colaboração na pesquisa intitulada “Estudos de farmacocinética dos alcalóides da *ayahuasca*” proposta pelo Prof. Dr. Maurício Yonamine, da faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo no sentido de oferecer a estrutura de nossa Instituição (Unidade Mista de Saúde de Capela do Alto) para a coleta de sangue dos voluntários da pesquisa. A Unidade Mista de Saúde de Capela do Alto dispõe de uma equipe multidisciplinar, composta por farmacêutico-bioquímico, terapeuta ocupacional, enfermeiro, psicóloga, fonoaudióloga e médicos de várias especialidades como cardiologista, psiquiatra, pediatra, ortopedista, clínico e outros, além de atendimento ambulatorial (das 7:00 às 19:00) e pronto-socorro 24 horas. A coleta de plasma será realizada com material descartável por profissionais competentes desta Unidade.

Aproveito a oportunidade para renovar protestos de elevada estima e consideração.

Capela do Alto , 19 de setembro de 2005

Braz João Vieira Neto

Secretário da Saúde

Dr. Ubirajara Roberto Mori

Prefeito Municipal

## **ANEXO III**

**Artigo de revisão submetido à publicação na Revista de Ciências  
Farmacêuticas Básica e Aplicada**

### **AYAHUASCA : UMA REVISÃO DOS ASPECTOS FARMACOLÓGICOS E TOXICOLÓGICOS**

Ana Paula Salum Pires, Carolina Dizioli Rodrigues de Oliveira\* e Mauricio Yonamine

Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Faculdade de Ciências

Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, SP, Brasil

## Resumo

A ayahuasca é uma bebida psicoativa originariamente utilizada por tribos indígenas da região amazônica, em rituais mágico-religiosos. Esta bebida é preparada através da infusão dos caules da *Banisteriopsis caapi* em combinação com as folhas da *Psychotria viridis*. A *P. viridis* contém o agente psicodélico *N,N*-dimetiltriptamina (DMT), enquanto a *B. caapi* contém  $\beta$ -carbolinas como a harmina, a harmalina e a tetraidro-harmina, que são inibidoras da monoaminoxidase (MAO). A enzima MAO degrada a DMT no fígado e intestino. No Brasil, a ayahuasca tem sido incorporada em rituais de grupos sincréticos religiosos como o Santo Daime e a União do Vegetal (UDV). Seu uso dentro do contexto religioso é amparado por lei federal. Nos últimos anos, esses grupos religiosos têm se espalhado na Europa e Estados Unidos, chamando a atenção de pesquisadores internacionais quanto aos efeitos da ayahuasca. Estudos têm indicado que a ayahuasca poderia ter aplicações terapêuticas como no tratamento da farmacodependência e outros transtornos psiquiátricos. Alguns especialistas têm também sugerido que a ayahuasca pode ser usada seguramente por adultos saudáveis. Entretanto, relativamente poucos estudos farmacológicos e toxicológicos têm sido conduzidos para uma melhor avaliação de suas propriedades. O objetivo do presente artigo é mostrar uma revisão geral da história até as recentes descobertas envolvendo a toxicologia e a farmacologia da ayahuasca.

**Unitermos:** ayahuasca, alucinógenos, dimetiltriptamina, santo daime, beta-carbolinas

\* Autor correspondente: Carolina Dizioli Rodrigues de Oliveira.  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Av. Prof. Lineu Preste, 580 B13B. Cidade Universitária 05508-900, tel: (11) 3091-2194, e-mail: cdro@usp.br

## 1. INTRODUÇÃO

A ayahuasca, também conhecida pelos nomes de caapi, daime, yajé, natema, vegetal e hoasca, é uma bebida composta pela associação de duas plantas primordiais: o cipó da *Banisteriopsis caapi* e as folhas da *Psychotria viridis* (Callaway, Grob, 1998). Originalmente, era utilizada por grupos indígenas associados ao xamanismo e por vegetelistas curandeiros que praticavam a medicina popular a base de extratos vegetais. A palavra ayahuasca é originária da língua quéchua e quer dizer: “aya”: “pessoa morta, espírito” e “waska” que significa “corda, liana, cipó”; logo, traduzindo-se para o português ficaria “corda dos mortos” (Luna, 1986).

A combinação do cipó com as folhas forma uma associação sinérgica, pois a *B. caapi* possui  $\beta$ -carbolinas: harmalina (HRL), harmina (HRM) e tetraidro-harmina (THH), inibidoras reversíveis da enzima monoaminoxidase (MAO) e a *P. viridis*, contém a *N,N*-dimetiltriptamina (DMT), que é um potente alucinógeno, também metabolizada pela MAO. Dessa forma, a ingestão da bebida proporciona aumento nas concentrações de serotonina e torna biodisponível a DMT por via oral, provocando ação alucinógena (Callaway, 1998).

Seu uso é difundido em vários países da América do Sul, tais como Peru, Bolívia, Colômbia, Brasil, Venezuela e Equador. Embora tenha existido toda essa expansão no consumo, é apenas no Brasil que se desenvolveu o uso ritualístico em populações não-indígenas, centralizadas em rituais religiosos. Dentre esses grupos os que mais se destacam são: o Santo Daime, a União do Vegetal (UVD) e a Barquinha (Labate, Araújo, 2004). Os adeptos dessa prática buscam um meio de facilitação do autoconhecimento e introspecção (Yritia *et al.*, 2002).

Nos últimos anos, grupos de seguidores dessas religiões brasileiras têm se estabelecido nos Estados Unidos e em vários países europeus, incluindo a Alemanha, Inglaterra, França e Espanha (Riba *et al.*, 2003). Entretanto, o Brasil é o único país a ter o uso da ayahuasca para fins religiosos amparado por lei, a exemplo do que ocorre com o uso do peyote (*Lepphora willimsii*, um cacto que contém mescalina) pela *Native American Church* nos Estados Unidos (Riba *et al.*, 2001). O uso religioso da ayahuasca foi reconhecido como prática legal no Brasil pelo Conselho Nacional Antidrogas, em Resolução de 04 de novembro de 2004 (Conselho Nacional Anti-drogas, 2004)

Entretanto, apesar da longa história e tradição do uso indígena, e a incorporação dessa prática em grupos religiosos ter se expandido mundialmente nos últimos anos, relativamente poucas informações pré-clínicas e clínicas foram acumuladas no sentido de fornecer uma base científica consistente para afirmar que o uso da ayahuasca é seguro ou não (Barker *et al.*, 2001; McKenna, 2004). Essa falta de informação abre margem para especulações e controvérsias sobre os possíveis efeitos indesejados da exposição aos alcalóides presentes nessa bebida. Desta forma, o objetivo do presente trabalho foi fazer uma revisão dos aspectos farmacológicos e toxicológicos da ayahuasca encontrados na literatura científica.

## **2. HISTÓRICO**

Não se pode definir ao certo desde quando remonta o costume de consumo de plantas que possuem substâncias capazes de alterar o estado de percepção. No caso da ayahuasca, os primeiros registros dizem respeito a populações indígenas da floresta amazônica, curandeiros e xamãs nos Andes, tribos no Equador, Venezuela,



Colômbia e Peru e também os seringueiros no norte do Brasil (Labate, Araújo, 2004).

No Brasil, o ciclo da borracha teve seu centro na região amazônica, sendo que seu auge girou em torno dos anos de 1879 a 1912. Proporcionou grande expansão da colonização, provocando transformações sócio-culturais e servindo de estopim para o desenvolvimento de grandes cidades na região. Consistia na extração do látex a partir da madeira da *Hevea Brasiliensis*, popularmente conhecida como seringueira. No entanto, por volta de 1912 chegava ao fim o monopólio de extração na Amazônia em virtude da concorrência das plantações inglesas na Malásia, Ceilão e África, com sementes oriundas da própria Amazônia, porém produzidas com maior eficiência e produtividade, não tardando aos ingleses a assumirem o controle mundial da comercialização do produto (Chauí, 2000).

Em contrapartida, centenas de seringueiros, trabalhadores dos seringais, desprovidos da renda da extração, ou fixaram-se na periferia das cidades ou migraram para estados vizinhos em busca de melhores condições de vida. Os seringueiros durante suas atividades extrativistas, via de regra entraram em contato com tribos indígenas xamânicas, onde desenvolveram o hábito de consumo da ayahuasca (Cemin, 1998).

Na década de 1930, intensificava-se no Brasil o processo de urbanização, sendo observadas mudanças significativas nos padrões de conduta entre trabalhadores e patrões, através de contratos trabalhistas, na interface social, bem como mudanças nas condutas morais e religiosas que fundamentavam a antiga sociedade rural brasileira (Goulart, 2004).

Em 1930 em Rio Branco, capital do Acre, Raimundo Irineu Serra, ex-seringueiro, migrante do Maranhão e conhecido “curador” que iniciava um culto com

uma comunidade que possui como ponto básico a ingestão da bebida denominada Santo Daime, que daria também origem ao nome da religião. A origem da palavra vem do verbo “dar” mais o pronome “me”, como uma rogação: “dai-me força”, “dai-me luz”, “dai-me saúde”, etc. (Goulart, 2004).

No entanto, se o nome Santo Daime é apenas mais um termo para identificar a bebida, o culto daimista seria o marco rompedor da antiga tradição de consumo da bebida sem contexto por parte das tribos indígenas por uma nova forma, contextualizada e bem definida, com objetivos e regras estipuladas (Goulart, 2004).

Em 1945, Frei Daniel Pereira de Mattos viria a fundar a Barquinha, também no Acre e na década de 1960, através do “mestre” José Gabriel da Costa, forma-se a União do Vegetal (UDV) em Porto Velho, Rondônia. Na década de 1970 surge o Santo Daime, que pode servir para identificar dois grupos: Alto Santo e o Centro Eclético da Fluente Luz Universal Raimundo Irineu Serra, o CEFLURIS. Este último liderado pelo “padrinho” Sebastião Mota de Melo. O CEFLURIS e o Alto Santo ou simplesmente Santo Daime afirmam seguir os ensinamentos de mestre Irineu e se auto-designam como Santo Daime e, embora existam diferenças e alguns conflitos entre as duas vertentes, podem ser classificados como compondo um único grupo (Labate, 2004).

A partir do final da década de 1970 e 1980, a UDV e o Santo Daime, respectivamente começam a se expandir pelos grandes centros urbanos do sudeste do país e mais recentemente também no exterior (Estados Unidos, Espanha, Holanda, Japão, entre outros). A Barquinha permanece quase exclusivamente restrita ao Acre, seu estado de origem (Labate, 2004).

É importante lembrar que, se por um lado as três principais vertentes tenham em comum o fato de pertencerem a uma mesma tradição – a da religiosidade não-

indígena de consumo da ayahuasca no Brasil, por outro lado, cada uma delas possui diferenças significativas entre si, o que veio a originar cisões em relação aos grupos originais (Labate, 2004).

### 3. A CERIMÔNIA

Como já foi citado, as três principais seitas que existem no Brasil são Alto Santo e CEFLURIS, cognominados Santo Daime, UDV e Barquinha. Embora existam particularidades em cada uma delas que as diferenciam, justificando a cisão, o preparo do chá, a cerimônia e as regras para adesão dos membros são bastante semelhantes (Franco, Conceição, 2004).

Para as cerimônias realizadas pelos seringueiros da Amazônia, a ayahuasca não pode ser preparada por qualquer pessoa. Os responsáveis pelo seu preparo já devem ter adquirido conhecimentos da ciência da produção e ter obtido, em miração, permissão para fazê-lo. Tendo obtido essa permissão divina, o primeiro passo é encontrar um pé de *B. caapi* (cipó jagube – planta macho) que o preparador julgue estar compatível. Esse processo pode levar horas ou dias, pois o pé de cipó escolhido pode estar próximo ou distante. A seguir, é necessário coletar as folhas da *P. viridis* (chacrona ou rainha - planta fêmea). Um cuidado especial é tomado, pois nem todas as folhas são adequadas: as chamadas folhas frias, mesmo pertencendo ao grupo da chacrona, não são consideradas boas para se preparar a ayahuasca. Em seguida o cipó é batido com um porrete de madeira, separando ou não o miolo da casca, o que ocasionará sabores diferentes quando da ingestão do chá. Esse processo é realizado pelos homens enquanto os mesmos entoam cânticos. O próximo passo é a triagem das folhas “machucadas”, conservando as sadias, que serão utilizadas no preparo do chá. Essa etapa é realizada pelas mulheres, que

também entoam cânticos no decorrer do processo. Batido o cipó e escolhidas as folhas, ambos serão reunidos numa importante etapa que é a fervura. Conhecimentos como quantidade de folha, de cipó, de água, tempo de fervura, temperatura adequada do fogo e até mesmo a melhor madeira para a lenha são essenciais no processo (Franco, Conceição, 2004).

Qualquer pessoa pode se tornar adepta. Homens, mulheres, crianças, idosos, grávidas, não há restrição alguma de sexo ou idade para ingestão do chá (Franco, Conceição, 2004).

Os grupos Alto Santo e CEFLURIS preservam o caráter sagrado da festa e da dança oriundos do catolicismo popular, sendo que são divindades: Deus, Jesus, Virgem Maria, santos católicos, entidades oriundas do universo afro-brasileiro e seres da natureza (sol, lua, estrela). O núcleo do ritual consiste em entoar coletivamente os hinos e dançar o bailado alternado com períodos de silêncio e meditação. O calendário de “trabalhos”, forma pela qual é conhecida a cerimônia, ocorre em datas pré-determinadas por cada grupo, geralmente duas vezes no mês e em vésperas ou no próprio dia de diversos santos diferentes conforme a seita. Existem missas especiais para os mortos e também missas de cura. A principal diferença entre o Alto Santo e o CEFLURIS, diz respeito à possessão, permissão para incorporar entidades, fruto da influência umbandista, que vem sendo amplamente aceita pelo CEFLURIS e é totalmente proibida no Alto Santo (Labate, 2004). Sempre há um ou mais responsáveis pela distribuição da bebida a todos os presentes. Essa pessoa deverá zelar para que o trabalho, transcorra em paz. No final do ritual ocorrem as orações “Pai Nosso” e “Ave Maria”. Também há um espaço para que os presentes, se assim o desejarem, manifestem sua experiência daquele

dia com relação ao trabalho. Um lanche ou refeição, encerra a noite de comunhão. (Franco, Conceição, 2004).

A Barquinha é por sua vez a linha mais eclética das três religiões e, sem dúvida, a que possui maior influência da umbanda. Nas cerimônias, após a ingestão da ayahuasca, ocorrem as incorporações de entidades espirituais que expressam os três planos cosmológicos: o astral, a terra e o mar. A Barca representa a missão deixada por Frei Daniel e também a viagem de cada um dentro da trajetória de vida de cada um. O calendário das atividades é o mais extenso e a diversidade dos trabalhos a mais ampla (Labate, 2004).

A União do Vegetal, diferente dos demais, possui um ambiente despojado de signos religiosos populares, tais como velas, imagens de santos, etc. Mais do que devoção, hinos ou preces, o trabalho está voltado para a concentração mental. Possui forte relação com o espiritismo kardecista, através de conceitos como evolução espiritual, reencarnação e busca do estado de perfeição do espírito. Possuem influência cristã, porém menos evidente, sendo que as figuras de Jesus Cristo e Virgem Nossa Senhora possuem lugar de destaque. Durante os trabalhos, há uma série de histórias, parábolas, que foram deixadas pelos fundadores e que trazem personagens tais como Iemanjá, Salomão e Samaúma (Labate, 2004).

Para os adeptos religiosos, o uso da ayahuasca também tem sido associado a diversos fenômenos interessantes: curas de males diversos, abandono de dependência a substâncias psicoativas (principalmente o álcool), “revigoração espiritual”, limpeza do organismo como um todo e harmonia consigo próprio e com o seu semelhante. A ingestão do chá está associada ao fenômeno conhecido como “miração”, no qual seria possível ao homem perceber a separação entre espírito e corpo (Costa *et al.*, 2005). Para eles, o fenômeno da “miração” não deve ser

confundido com as visões alucinatórias. Significa mais do que ver e possui para os usuários conotação sagrada. A “miração” é uma manifestação específica e freqüente na qual se possui visões de animais, divindades, demônios, sensação de voar, de fusão do corpo com o espírito (Labigaline, 1998).

O processo da “cura espiritual” é considerado lento e doloroso. Engloba mudanças na personalidade, nas relações do indivíduo com seu próprio corpo, reinterpretação de seu papel profissional, e por fim, mudanças na inter-relação do indivíduo com a sociedade e também com a natureza, promovendo no indivíduo a conscientização ampla de suas responsabilidades (Pelaez, 2004).

#### **4. BOTÂNICA E FITOQUÍMICA DA AYAHUASCA**

O preparo da ayahuasca consiste na fervura da casca da *Banisteriopsis caapi* juntamente com as folhas da *Psychotria viridis*. *Psychotria* é um grande gênero de arbustos e pequenas árvores encontradas em regiões tropicais de todo o mundo (incluindo cerca de 1.400 espécies), e sua taxonomia é um pouco complexa. Muitas outras espécies são morfologicamente semelhantes à *Psychotria viridis*, e algumas dessas espécies são provavelmente usadas no preparo da ayahuasca (Blackledge, Taylor, 2003). A *P. viridis* pertence à família Rubiaceae e também é conhecida como chacrona ou rainha. Contém DMT como principal alcalóide e também pequenos índices de N-metiltetraidro- $\beta$ -carbolina (McKenna, 2004). Podem também ser utilizadas outras espécies do gênero *Psychotria*, tais como *Psychotria cartagenensis* ou *Diplopterys cabrerana* (McKenna *et al.*, 1984).

As aminas indólicas psicoativas DMT e seus análogos bufotenina e 5-MeO-DMT, também são constituintes de rapés e chás preparados a partir de diferentes espécies vegetais que crescem em várias regiões da América. Nos Estados Unidos,

concentrações apreciáveis de DMT são encontradas em extratos de *Phalaris* (*Phalaris arundinacea*, *Phalaris tuberosa* e *Phalaris aquatica*, está última encontrada também no Canadá). Estas espécies são muito utilizadas para elucidação da biogênese das indolalquilaminas e são geralmente encontradas em campos sem cultivo e em calçadas rachadas. *Desmanthus illinoensis* também possui DMT em suas raízes (Thompson *et al.*, 1987).

Há muitas outras fontes botânicas de DMT na região da América do Sul. Podem ser extraídas de sementes de *Anadenanthera peregrina* ou de cascas de caules de *Virola* spp. *Piptadenia*, *Mimosa hostilis*, *Lespedeza bicolor*, *Diplopterys cabrerana* (syn. *Banisteriopsis rusbyana*) e *Psychotria viridis* (Thompson *et al.*, 1987).

A *B. caapi*, também conhecida como mariri, é um cipó ou parreira gigante pertencente à família Malpighiaceae e é nativa das zonas tropicais da América do Sul e Antilhas. Possui alcalóides  $\beta$ -carbolinas que são potentes inibidores reversíveis da MAO-A. As principais  $\beta$ -carbolinas são harmina (HRM), também conhecida como telepatina; harmalina (HRL) e tetraidro-harmina (THH) (Callaway, Grob, 1998). As  $\beta$ -carbolinas são compostos indólicos tricíclicos que são relacionados biossinteticamente e farmacologicamente com as triptaminas. Elas são prontamente sintetizadas via condensação das indolaminas com aldeídos ou alfa-ceto-ácidos e sua biossíntese provavelmente também se processa via reações similares (Melchior, Collins, 1982).

As concentrações de  $\beta$ -carbolinas encontradas na *B. caapi* variam de 0,05% a 1,95% de peso seco, enquanto na *P. viridis*, as concentrações de alcalóides estão na faixa de 0,1 a 0,66% de peso seco (McKenna *et al.*, 1984; McKenna, 2004). Na bebida ayahuasca, os teores de agentes psicoativos são maiores do que aqueles

encontrados nas plantas das quais ela é preparada. Na ayahuasca peruana, McKenna *et al.* (1984) verificaram que uma dose de 100mL continha cerca de 60mg de DMT, 41mg de harmalina, 467mg de harmina e 160mg de tetraidro-harmina. Em outro experimento, Callaway *et al.* (1996) obtiveram os seguintes resultados de concentração de alcalóides presentes no chá utilizado por um grupo religioso do Brasil: 0,24mg/mL de DMT, 0,20mg/mL de harmalina, 1,70mg/mL de harmina e 1,07mg/mL de tetraidro-harmina. Isso significa que uma dose típica de 100mL dessa bebida contém 24mg de DMT, 20mg de harmalina, 170mg de harmina e 107mg de tetraidro-harmina. As diferenças nas concentrações e proporções dos alcalóides encontrados nos chás de ayahuasca estão provavelmente relacionadas com o método de preparação e a quantidade e proporção das partes das plantas empregadas em seu preparo (McKenna, 2004).

Mais recentemente, Gambelunghe *et al.* (2008) encontraram 0,24 mg/mL de DMT; 0,06 mg/mL de HRL e 0,34 mg/mL de HRM (Gambelunghe, 2008). Pires *et al.* (2009) também determinaram as concentrações de alcalóides em diferentes preparações de ayahuasca, obtendo-se os seguintes teores: 0,31 a 0,73 mg/mL de DMT; 0,21 a 0,67 mg/mL de THH; 0,64 a 1,72 mg/mL de HRL e 0,37 a 0,83 mg/mL de HRM.

Membros de seitas com longa experiência de uso mencionam que a utilização de diferentes espécies de *Banisteriopsis* e *Psychotria* produz diferentes tipos de “visões”, mais ou menos potentes conforme a espécie (Aranha *et al.*, 1991).

## 5. FARMACOCINÉTICA

Estudos de farmacocinética dos alcalóides presentes na ayahuasca são escassos na literatura. Callaway *et al.* (1999) relataram resultados da medida de



concentração plasmática de voluntários que ingeriram a bebida durante o andamento de uma cerimônia religiosa. Neste experimento somente 12 dos 15 voluntários apresentaram níveis mensuráveis de DMT, possivelmente devido à êmese causada pela ingestão da ayahuasca. A concentração plasmática máxima (Cmx) de DMT encontrada foi de 15,8ng/mL e ocorreu 107 minutos após a ingestão. A meia-vida foi de 259 minutos. A Cmx de tetraidro-harmina de 91ng/mL foi alcançada em 174 minutos e apresentou meia-vida mais prolongada (532 min). Em relação à harmina e harmalina, a Cmx foi de 114,8 e 6,3ng/mL, respectivamente obtida após 102 e 145 minutos. A meia-vida ( $t_{1/2}$ ) da harmina foi de 115,6 minutos enquanto a  $t_{1/2}$  da harmalina não pôde ser determinada. Neste trabalho foram descritos ainda métodos analíticos, conduta psicológica antes, durante e depois da ingestão, alterações na recaptura da serotonina, resultados farmacocinéticos seguidos da ingestão e sua co-relação com alguns efeitos farmacodinâmicos. Com relação aos efeitos subjetivos, a duração dos mesmos foi coincidente com os níveis de alcalóides presentes no plasma. Houve aumento de hormônios que retornaram ao normal após 6 horas e no caso do cortisol houve aumento significativo, para em seguida descer abaixo dos valores basais. Foram realizadas medidas automáticas de diâmetro da pupila, nível de respiração e temperatura oral, sendo que todas aumentaram e também nas pressões sistólica e diastólica e nos batimentos cardíacos por minuto, que também tiveram elevação (Callaway *et al.*, 1999).

Em outro estudo conduzido por Riba *et al.* (2003), foram administradas doses de 0,6 e 0,85 mg de DMT/kg de peso corpóreo na forma de cápsulas de ayahuasca seca, em oito voluntários com histórico prévio de uso de psicodélicos. A ayahuasca produziu significantes efeitos subjetivos, com máxima intensidade alcançada entre 1,5 a 2 horas após a ingestão. A concentração plasmática máxima de DMT após a

menor e a maior dose foram de 12,14 ng/mL e 17,44 ng/mL, respectivamente. O tempo que se obteve a  $C_{mx}$  coincidiu com o pico de intensidade de efeitos subjetivos.

Alguns métodos analíticos para determinação dos alcalóides da ayahuasca em amostras biológicas têm sido publicados na literatura. A DMT tem sido quantificada em plasma por cromatografia em fase gasosa com detector de nitrogênio-fósforo (GC-NPD), enquanto  $\beta$ -carbolineas são determinadas por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) com detector de fluorescência (Callaway *et al.*, 1996; Yritia *et al.*, 2002). Mais recentemente, um método foi desenvolvido para determinação de triptaminas alucinogênicas em sangue e urina por cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC-MS) e cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa (LC-MS) (Vorce, Sklerov, 2004).

A DMT, quando administrada pela via pulmonar (fumada) ou pela via intravenosa, é capaz de produzir efeitos alucinógenos, quase imediatos. Uma simples inalação produz de cinco a dez minutos de viagem que duram em torno de 30 minutos, caracterizada por alucinações multicoloridas. Não há estudos sobre a toxicologia ou a cinética da DMT fumada. Já para a forma injetável com doses de 0,2 a 0,4 mg/kg, são observados efeitos quase instantaneamente, sendo que os níveis sanguíneos associados com as visões foram medidos em 32-204 ng/mL, depois de uma dose de 0,4 mg/kg (Laing, Siegel, 2003).

Já para o chá, o tempo para início dos efeitos é de aproximadamente uma hora após a ingestão. Esses efeitos, que são menos intensos que os produzidos pela DMT parenteral ou fumada, duram aproximadamente 4 horas (Brito, 2004).

## 6. FARMACODINÂMICA

Entre as várias substâncias psicoativas existentes, somente cinco, foram classificadas como verdadeiros alucinógenos, uma vez que compartilham duas características: produzem efeitos subjetivos similares e desenvolvem tolerância cruzada. São elas: dietilamida do ácido lisérgico (LSD), a psilocibina, a dimetiltriptamina (DMT), a mescalina e a 2,5 dimetoxi-4-metil anfetamina (DOM) (Jacobs, 1987).

Os efeitos subjetivos similares podem ser exemplificados na área somática por náuseas, vômitos, tremores, tonturas, debilidade, contratura muscular, hiper-reflexia, dores generalizadas, taquicardia (Callaway, Grob, 1998). No plano psíquico: profundas e rápidas alterações dos estados emocionais, o indivíduo vai da depressão a euforia em poucos segundos, pânico, apatia, alterações na memória e no pensamento, despersonalização e hipersugestibilidade, medo, insônia, sensação de morte iminente. No plano perceptivo-sensorial: distorções de tempo e espaço, estranhas sensações corporais, alterações nas percepções de formas, cores, sons, sinestésias e alucinações com alterações auditivas, olfativas e visuais (Shanon, 2003).

Embora os agentes psicodélicos atuem nos mesmos receptores cerebrais e produzam similares mudanças somáticas, psíquicas e perceptivo-sensoriais, elas por si só não são os fatores determinantes das características da “viagem psicodélica”. Estas substâncias apenas seriam responsáveis pela “abertura da mente” a outras formas de percepção. Estando em espaços abertos, cada pessoa, considerando sua formação cultural, pode experimentar emoções e sensações totalmente diferentes (Pelaez, 2004).

A DMT é estruturalmente semelhante ao neurotransmissor serotonina e age ligando-se a receptores 5-HT<sub>1a</sub>, 5HT<sub>1b</sub>, 5-HT<sub>2a</sub> e 5HT<sub>2c</sub> existentes no sistema nervoso central (Yritia *et al.*, 2002). Essa ação agonista serotoninérgica produz uma série de alterações cognitivas, sensoriais e emocionais momentâneas quando administrada por via parenteral. As modificações na percepção parecem ser bastante intensas, porém com um período de tempo bastante curto em sua duração (Strassman *et al.*, 1994; Pomilio *et al.*, 1999; Freedland, Manbach, 1999).

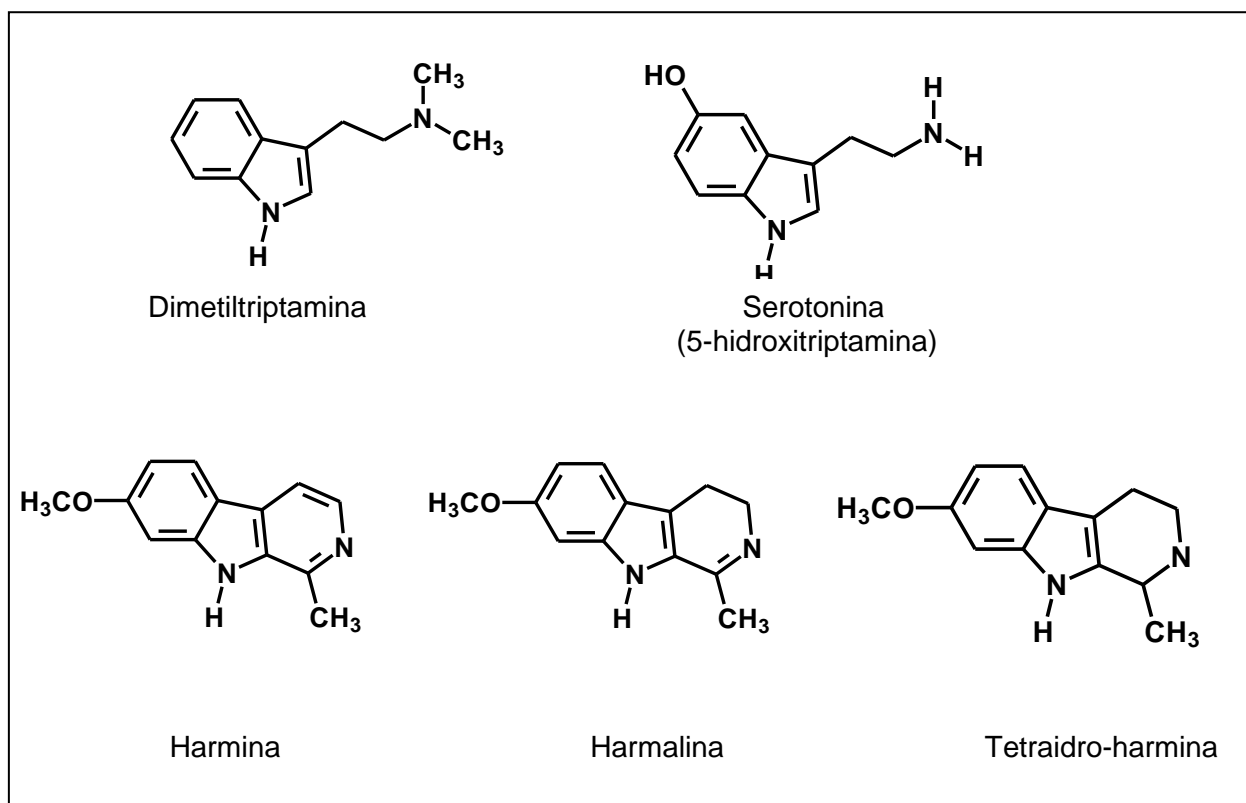
Quando administrada por via oral, entretanto, tem sido demonstrada a perda de atividade da DMT devido à degradação de primeira passagem realizada pela enzima monoaminoxidase-A (MAO-A) periférica (Ott, 1999). Interessantemente, a ayahuasca também contém  $\beta$ -carbolinas, como a harmina, a harmalina e a tetraidroharmina, presentes na *P. viridis*. A harmina e a harmalina e em menor extensão, a tetraidroharmina, são potentes inibidores da MAO, fato que explica as propriedades psicoativas da bebida. Desta forma, as  $\beta$ -carbolinas impediriam a degradação da DMT no trato gastrointestinal, possibilitando que o fármaco fique disponível para ser absorvido (Riba *et al.*, 2003). De fato, verificou-se que a DMT é inativa após administração oral de doses até 1000 mg, enquanto que em doses parenterais de 25mg já se observam alguns efeitos neurocomportamentais (Strassman, Qualls, 1994; Mckenna, 2004).

As  $\beta$ -carbolinas, por si mesmas, também poderiam contribuir com os efeitos psicoativos da ayahuasca, bloqueando a MAO no cérebro e inibindo fracamente a recaptação de serotonina, fenômenos que aumentariam os níveis do neurotransmissor na fenda sináptica (Cazenave, 2000; Callaway *et al.*, 1999). Entretanto, as quantidades de  $\beta$ -carbolinas presentes numa dose de ayahuasca são bem abaixo do limiar de sua atividade alucinogênica própria, que são de 300 à

500mg para HRL e THH e de 100mg para HRM. Por outro lado, estão acima do limiar para atividade como inibidora da MAO (Brito, 2004).

A seletividade das  $\beta$ -carbolinas pela MAO-A sobre a MAO-B também pode explicar porque não há relatos de crises hipertensivas associadas com a ingestão da ayahuasca em combinação com alimentos contendo tiramina (Callaway *et al.* 1999).

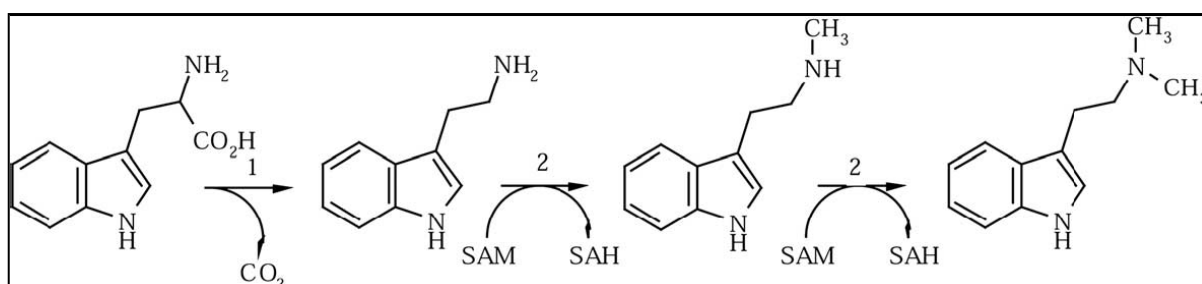
Na Figura 1 são apresentadas as estruturas químicas da DMT e as principais  $\beta$ -carbolinas presentes na ayahuasca, assim como a estrutura química do neurotransmissor serotonina, ilustrando suas similaridades químicas.



**Figura 1** – Estruturas químicas dos principais alcalóides presentes na ayahuasca e do neurotransmissor serotonina (5-hidroxitriptamina).

A DMT, a triptamina e a 5-hidroxi-*N,N*-dimetiltryptamina (bufotenina) também foram reportadas como constituintes normais da urina e sangue humanos (Franzen,

Gross, 1965). A DMT endógena é gerada a partir do aminoácido essencial à alimentação: o triptofano; e a reação (Figura 2) é catalisada graças à ação de duas enzimas: a aminoácido aromático descarboxilase (AADC) **(1)**, que descarboxila o triptofano formando triptamina, e a indoletilamina-*N*-metiltransferase (INMT) **(2)**, que transfere grupamentos metil do *S*-adenosilmetionina (SAM) para a triptamina, gerando primeiramente *N*-metiltriptamina, e em seguida DMT (Jacob, Presti, 2005).



**Figura 2** - Reação de biossíntese de DMT a partir do triptofano.

Logo após a descoberta de DMT endógeno em humanos, alguns pesquisadores começaram a analisar correlações entre o aumento dos níveis de DMT em fluidos humanos e a esquizofrenia. Estudos na área descreveram um aumento na excreção urinária de DMT em pacientes esquizofrênicos (Jacob, Presti, 2005).

## 7. POSSÍVEIS APLICAÇÕES TERAPÊUTICAS

Embora existam poucas informações sobre a ação farmacológica em indivíduos que tomam ayahuasca ou sobre a eficácia de suas possíveis aplicações farmacêuticas, há evidências de que a ayahuasca forneça benefícios farmacológicos somados a suas qualidades psicoterapêuticas (Stuckey, 2005).

Grob *et al.* (1996) realizaram avaliações psiquiátricas (n=30) em adultos que faziam uso da ayahuasca no contexto religioso (UDV), comparados com indivíduos que não usavam ayahuasca (grupo controle). Observou-se que esses indivíduos faziam intenso uso de álcool anteriormente e tiveram completa abstinência após a afiliação à UDV. Esses indivíduos também apresentaram diminuição ou ausência de reações crônicas de raiva, agressão, ansiedade, ressentimento e alienação.

As informações relacionadas ao uso de álcool podem ter sido prejudicadas uma vez que a UDV proíbe que seus membros usem qualquer substância psicoativa. Entretanto, os outros parâmetros avaliados como agressão e a procura pela novidade diminuíram significativamente no grupo de usuários de ayahuasca quando comparados com grupo controle e também quando comparados com resultados de outro estudo realizado com usuários de LSD – ácido lisérgico (Halpern, Pope, 1999).

Doering-Silveira *et al.* (2005a) avaliaram neuropsicologicamente (n=84) adolescentes que usam ayahuasca no contexto religioso, comparando-os com adolescentes que nunca usaram ayahuasca (grupo controle). A avaliação neuropsicológica incluiu testes de velocidade de atenção, pesquisa visual, velocidade psicomotora, habilidade verbal e visual, flexibilidade mental e memória. Os resultados mostraram não haver diferença entre os dois grupos para os parâmetros avaliados.

Outro estudo realizou uma avaliação psiquiátrica (n=80), verificando-se escalas de depressão, ansiedade, uso de álcool e problemas de atenção em adolescentes que usavam ayahuasca em comparação a um grupo de adolescentes que não usava (controle). A avaliação mostrou mínimas diferenças entre os grupos, havendo uma tendência a menores sintomas de ansiedade e menor déficit de atenção no grupo que usava ayahuasca (Doering-Silveira *et al.*, 2005).

Mais um estudo, com o mesmo delineamento, também direcionado a avaliação em adolescentes, investigou experiências relacionadas ao uso de substâncias psicoativas. Os resultados obtidos mostraram que não houve diferença estatisticamente significativa, porém houve uma proporção maior de relato de uso recente de álcool (65,1% para o grupo controle e 30,5% para o grupo de adolescentes que usava ayahuasca), mostrando a importância da afiliação religiosa como fator protetor em relação ao uso de álcool (Da Silveira *et al.*, 2005b).

Através do artigo de revisão de McKenna *et al.* (2004), observa-se que a ayahuasca possui dois grandes fatores que indicam que ela pode apresentar um grande e inexplorável potencial terapêutico: o uso da mesma por tribos remotas a um período de tempo bastante longo e também o fato de apresentar histórico positivo de recuperação no tratamento de indivíduos usuários de álcool e outras substâncias de abuso.

Além destes, há também a possibilidade da ayahuasca atuar regularizando os índices de serotonina em condições de defasagem da modulação a longo prazo. Cogita-se também que possa ter significantes efeitos imuno-modulatórios. Há relatos inclusive de remissão de cânceres e outros problemas sérios relacionados, através do uso regular do chá (McKenna, 2004).

Todos os efeitos terapêuticos observados com o consumo de ayahuasca necessitam de estudos clínicos complementares. Muitas questões relacionadas a uma melhor compreensão dos efeitos da ayahuasca devem ser respondidas com estudos pré-clínicos *in vitro* e em modelos animais. O resultado desses estudos será, então, útil para o delineamento de subseqüentes estudos clínicos (McKenna, 2004).



## 8. ASPECTOS TOXICOLÓGICOS

O critério de letalidade aguda numa única dose em animais de experimentação é uma estimativa extremamente limitada de extrapolação de toxicidade humana, pois não se levam em consideração variáveis como diferenças interespecies, doses repetidas, condições ambientais, estado prévio de saúde e fatores fisiológicos. Apesar disso, a influência que variáveis podem ter numa relação dose-resposta estabelecida não pode esconder o fato de que a DL50 (dose letal média, representando a morte de 50% de um total estabelecido) é uma dose claramente definida, reproduzível e importante indicador de toxicidade. Uma extrapolação simples da letalidade do DMT de informações obtidas de camundongos para humanos foi feita. Uma regra tradicional para escalar diferenças desconhecidas entre espécies humanas e não-humanas é simplesmente assumir que humanos são 10 vezes mais sensíveis que roedores. Quando há ausência de informações sobre a DL50 oral de uma substância, como o caso do DMT, deve-se assumir que humanos são 20 vezes mais sensíveis que roedores. Isto resulta numa DL50 para humanos de 1,6 mg/kg quando DMT é administrada por via intravenosa, ou seja, 112 mg para uma pessoa padrão de 70 kg. A biodisponibilidade de uma substância administrada via intravenosa é assumida como 100%. A biodisponibilidade de uma dose por via oral é significativamente menor. Assume-se, então o fator de conversão da biodisponibilidade intravenosa para oral como 1:5 baseado na suposição que 0,4 mg/kg por via intravenosa ser equivalente a aproximadamente 2,0 mg/kg por via oral. Assim, estima-se, que por via oral a DL50 seja de 8 mg/kg, concluindo-se que uma dose letal de ayahuasca em seres humanos, é provavelmente maior que 20 vezes a dose típica cerimonial (Gable, 2007).

Quanto às  $\beta$ -carbolinas, parece que estas não são potencialmente tóxicas, uma vez que a DL50 em ratos é de 120mg/kg. Autópsias de bovinos que consumiram grandes quantidades de arbustos que contém harmalina demonstraram somente congestão passiva visceral (Laing, Siegel, 2003).

Estudos realizados em camundongos mostram que as  $\beta$ -carbolinas produzem efeitos na temperatura corpórea e na função motora, aumentando a intensidade de tremores de forma dose-dependente, efeitos que parecem envolver mecanismos serotoninérgicos, noradrenérgicos e GABAérgicos (Freedland, Mansbach, 1999).

Em relação aos estudos de toxicidade aguda e crônica da exposição à ayahuasca por humanos, Grob *et al.* (1996) não verificaram evidências de efeitos adversos graves em voluntários que usavam ayahuasca em cerimônias religiosas. Neste contexto, o chá é consumido regularmente por homens e mulheres na faixa de idade dos 13 aos 90 anos. A avaliação psicológica de usuários de longo prazo não encontrou evidências de prejuízos nas atividades mentais. Funções cognitivas, fluência verbal, habilidade matemática, motivação, bem-estar emocional e personalidade foram alguns dos parâmetros avaliados no estudo. De fato, tem sido reportado que vários usuários regulares de ayahuasca com idade aproximada de 80 anos e que fizeram uso desde sua adolescência, permaneceram com acuidade mental e vigor físico preservados (Callaway *et al.*, 1999).

O fenômeno de tolerância pode ser observado após seu uso regular, porém não tem sido constatado potencial de causar dependência. Ao contrário, a ayahuasca tem sido sugerida como adjunto no tratamento da dependência ao álcool e outras drogas de abuso (Grob *et al.*, 1996; McKenna, 2004;).

Efeitos adversos à saúde podem ocorrer a partir do uso casual da ayahuasca, particularmente quando substâncias serotoninérgicas são utilizadas em conjunto. É

fato que a DMT pode induzir episódios psicóticos transitórios, que entretanto, se resolvem espontaneamente em algumas horas. Até o momento não houve estudos conclusivos de que a ayahuasca possua potencial de abuso substancial ou persistente. Por outro lado, vem sendo registrados os benefícios psicológicos a longo prazo dentro de um uso contextualmente religioso, sendo que se têm observado que os usuários dedicados, com o tempo perdem o interesse pelo álcool, tabaco, cocaína entre outras substâncias (Gable, 2007).

No estudo conduzido por Callaway *et al.* (1994), observou-se que não há evidências de dependência física, mas alguma tolerância pode ser desenvolvida com o uso regular, sendo que podem ocorrer alterações nos níveis de neurotransmissores, principalmente da serotonina. A margem de segurança da utilização da ayahuasca em uma cerimônia religiosa se compara ao uso da codeína, mescalina ou metadona. O potencial de dependência oral do DMT e perturbação psicológica são mínimas de acordo com Gable (2007).

Quanto aos aspectos físicos, a DMT aumenta rapidamente os batimentos cardíacos, bem como as pressões sistólica e diastólica. Estudos com administração oral de  $\beta$ -carbolinas juntamente com DMT, induziram a um aumento dos picos dos batimentos cardíacos e pressão arterial cerca de um terço a mais que quando a DMT é administrada isoladamente após 90 e 120 minutos. Como dito anteriormente, as  $\beta$ -carbolinas contribuem para o aumento da quantidade de serotonina na fenda sináptica. O acúmulo excessivo pode produzir uma série de efeitos adversos tais como, tremor, diarreia, instabilidade autonômica, hipertermia, sudorese, espasmos musculares e possivelmente morte. Esse conjunto de sinais e sintomas é conhecido como síndrome serotoninérgica. Efeitos colaterais como desconforto físico ou dor crônica podem ser exacerbados pela ayahuasca (Gable, 2007).

De fato, somente um caso de intoxicação fatal foi registrado depois de suposta ingestão da ayahuasca por um homem branco de 25 anos de idade. Análises macro e microscópicas não foram conclusivas, revelando somente congestão e edema tecidual. A análise toxicológica revelou as seguintes concentrações sanguíneas na vítima: DMT (0,02 mg/L); 5-metoxi-*N,N*-dimetiltriptamina (1,88 mg/L); THH (0,38 mg/L); HRL (0,07 mg/L) e HRM (0,17 mg/L). A causa da morte apontada pelo médico legista foi intoxicação alucinógena por aminas (Sklerov *et al.*, 2005). Em contrapartida, essa publicação foi contestada por Callaway *et al.* (2006), que relata que nenhuma mistura de plantas, tradicionalmente usadas em cultos de tribos indígenas concentraria quantidade suficiente de 5-metoxi-*N,N*-dimetiltriptamina para levar a óbito um ser humano. Aventa a hipótese de que a pessoa em questão poderia ter ingerido além do chá, a substância sintética, o que poderia justificar as altas concentrações encontradas no sangue do jovem. Outra possibilidade seria a de se ter confundido a DMT que é o componente usual da ayahuasca com o seu análogo 5-metoxi-*N,N*-dimetiltriptamina que possui um potencial tóxico muito mais relevante e significativo.

## 9. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização da ayahuasca é uma polêmica que ainda carece de vários estudos farmacocinéticos, farmacodinâmicos e toxicológicos para que se consiga chegar a um consenso de seu uso com segurança. Em paralelo, o quadro que se apresenta é de um número cada vez maior de adeptos, aparentemente indiferentes ao risco de se fazer uso regular de uma bebida que pode ter efeitos benéficos conforme apresentado, mas dos quais não se sabe quais efeitos indesejáveis podem vir a ser manifestados a longo prazo.

O fato dos usuários terem somente depoimentos favoráveis à ingestão não deve ser usado como justificativa para se interromper os estudos ao redor da ayahuasca, muito pelo contrário, devem servir de incentivo para que se verifique se realmente os efeitos benéficos apontados são condizentes com a realidade e podem ser utilizados no combate à farmacodependência e até mesmo da re-inserção de indivíduos na sociedade.

O uso do chá por grávidas e crianças deve ser outro fator a ser considerado com mais critério, uma vez que em ambas as situações o organismo responde de forma diferenciada. No caso de mulheres grávidas, é ainda mais delicado, uma vez que algumas  $\beta$ -carbolinas possuem ação co-mutagênica conforme estudo de Umezawa *et al.*, de 1978.

No entanto, mesmo com a escassez de informações sobre a segurança de seu uso, sem dados científicos que indiquem seus riscos à saúde, não se pode deixar de reconhecer a importância de seu uso associado à religiosidade e ao seu contexto histórico-cultural brasileiro.

## **10. AGRADECIMENTOS**

Agradecemos à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento concedido (Processo 2006/00388-5).

**Abstract**

Ayahuasca is a psychoactive plant beverage originally used by shamans in magico-religious practices of Amazonian indigenous people. This beverage is obtained by infusing the pounded stems of *Banisteriopsis caapi* in combination with the leaves of *Psychotria viridis*. *P. viridis* contains the psychedelic agent *N,N*-dimethyltryptamine (DMT), whereas *B. caapi* contains beta-carbolines such as harmine, harmaline and tetrahydroharmine, which are monoamine oxidase (MAO) inhibitors. MAO is the enzyme that normally degrades DMT in the liver and gut. In Brazil, ayahuasca has been incorporated in rituals of modern syncretic religious groups, mainly the Santo Daime and the União do Vegetal (UDV). In this country, the use of ayahuasca within religious context is protected by law. Some of these religious groups have also established in the United States and European countries. Studies have indicated that ayahuasca may have therapeutic applications for the treatment of substance addiction and other disorders. Some specialists have also suggested that ayahuasca can be used safely in normal healthy adults. However, relatively few pharmacological and toxicological studies have been performed for a better evaluation of its properties. The aim of this article is to present a review of its story until the recent discoveries involving pharmacological and toxicological aspects of ayahuasca.

**Uniterms:** ayahuasca, hallucinogens, dimethyltryptamine, santo daime, beta-carbolines

## 11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARANHA, C. TRAVAINÉ, G., CORREA, M.A. Aspectos botânicos e taxonômicos das plantas *Banisteriopsis* sp e *Psychotria* sp. Comunicação apresentada no 1º Congresso em Saúde. Centro de Estudos Médicos União do Vegetal, São Paulo, Brasil, 30 de maio a 02 de junho, 1991.

BARKER, S.A., LITTLEFIELD-CHAUBAUD, M.A., DAVID, C. Distribution of the hallucinogens *N,N*-dimethyltryptamine and 5-methoxy-*N,N*-dimethyltryptamine in rat brain following intraperitoneal injection: application of a new solid-phase extraction LC-APCl-MS-MS isotope dilution method. *J. Chromatogr. B.*, v.751, p.37-47, 2001.

BLACKLEDGE, R.D. TAYLOR, C.M. *Psychotria Viridis* - A Botanical Source of Dimethyltryptamine (DMT). *Microgram Journal*, v.1, p.18-22, 2003.

BRITO, G.S. Farmacologia humana da hoasca (chá preparado de plantas alucinógenas usado em contexto ritual no Brasil). In: LABATE, B.C. *O uso ritual da ayahuasca*. Mercado de Letras, Edições e Livraria Ltda. Campinas, p.623-671, 2004.

CALLAWAY, J.C., AIRASKSINEN, M. M., MCKENNA, D.J., BRITO, G.S., GROB, C.S. Platelet serotonin uptake sites increase in drinkers of ayahuasca. *Psychopharmacology*, v.116, p.385-387, 1994.

CALLAWAY, J.C., RAYMON, L.P., HEARN, W.L. MCKENNA, D.J., GROB, C.S., BRITO G.S., MASH, D.C. Quantitation of N,N-dimethyltryptamine and harmala alkaloids in human plasma after oral dosing with ayahuasca. *J. Anal. Toxicol.*, v.20, p.492-497, 1996.

CALLAWAY, J.C., GROB, C.S., Ayahuasca preparations and serotonin reuptake inhibitors: a potential combination for severe adverse interactions. *J. Psychoactive Drugs.*, v.30, n.4, p.367-9, 1998.

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. *J. Ethnopharmacology.*, v.65, p.243-256, 1999.

CALLAWAY, J.C., GROB, C.S., MCKENNA, D.J., NICHOLS, D.E., SHULGIN, A., TUPPER, K.W. A demand for clarity regarding a case report on the ingestion of 5-methoxy-N,N-dimethyltryptamine (5-MeO-DMT) in an Ayahuasca preparation. *J. Anal. Toxicol.*, v.29, p.406-407, 2006.

CAZENAVE, S.O.S. Banisteriopsis caapi: ação alucinógena e uso ritual. *Rev. Psiquiatr. Clin.*, v. 7, n.1, p.1-6, 2000.

CEMIN, A. Ordem, xamanismo e dádiva: o poder do Santo Daime. {Tese} São Paulo: Tese de doutorado em Antropologia Social, USP, p.37, 1998.



CHAUÍ, M. *Brasil: Mito fundador e sociedade autoritária*, Fundação Perseu Abramo, São Paulo, 2000. 104p.

CONSELHO NACIONAL ANTI-DROGAS. Resolução n.4, de 04 de novembro de 2004. Diário Oficial da União (DOU) da República Federativa do Brasil, 8 de novembro de 2004.

COSTA, M.C.M., FIGUEIREDO, M.C., CAZENAVE, S.O.S. Ayahuasca: Uma abordagem toxicológica do uso ritualístico. *Rev. Psiquiatr. Clin.*, v.32, n.6, p.310-318, 2005.

DA SILVEIRA, D.X., GROB, C.S., DE RIOS, M.D., LOPEZ, E., ALONSO, L.K., TACLA, C., DOERING-SILVEIRA E. Ayahuasca in adolescence: a preliminary psychiatric assessment. *J. Psychoactive Drugs*, v.37, n.2, p.129-33, 2005.

DOERING-SILVEIRA, E., LOPEZ, E., GROB, C.S., DE RIOS, M.D., ALONSO, L.K., TACLA, C., SHIRAKAWA, I., BERTOLUCCI, P.H., DA SILVEIRA, D.X. Ayahuasca in adolescence: a neuropsychological assessment. *J. Psychoactive Drugs*, v.37, n.2, p.123-8, 2005a.

DOERING-SILVEIRA, E., GROB, C.S., DE RIOS, M.D., LOPEZ, E., ALONSO, L.K., TACLA, C., DA SILVEIRA, D.X. Report on psychoactive drug use among adolescents using ayahuasca within a religious context. *J. Psychoactive Drugs*, v.37, n.2, p.141-4, 2005b.

FRANCO, M.C.P., CONCEIÇÃO, O.S. Breves revelações sobre a ayahuasca. O uso do chá entre os seringueiros do Alto Juruá. In: LABATE, B.C. O uso ritual da ayahuasca. Mercado de Letras, Edições e Livraria Ltda.. Campinas, p.201-225, 2004.

FREEDLAND, C.S., MANSBACH, R. S. Behavioral profile of constituents in ayahuasca, an Amazonian psychoactive plant mixture. *Drug and Alcohol Depend.*, v. 54, p.183-194, 1999.

FRANZEN, F., GROSS, H. Tryptamine, *N,N*-dimethyltryptamine, *N,N*-dimethyl-5-hydroxytryptamine and 5-methoxytryptamine in human blood and urine. *Nature.*, v.21, p.84-93, 1965.

GABLE, R.S. Risk assessment of ritual use of oral dimethyltryptamine (DMT) and harmala alkaloids. *Addiction.*, v.102, p.24-34, 2007.

GOULART, S.L. O contexto de surgimento do culto do Santo Daime: formação da comunidade e do calendário ritual. In: LABATE, B.C. *O uso ritual da ayahuasca*. Mercado de Letras, Edições e Livraria Ltda. Campinas, p.277-301, 2004.

GROB, C.S., MCKENNA, D.J., CALLAWAY, J.C., BRITO, G.S., NEVES, E.S., OBERLAENDER, G., SAIDE, O.L., LABIGALINI, E., TACLA, C., MIRANDA, T.C., STRASSMAN, R.J., BOONE, K.B. Human Psychopharmacology Of

Hoasca, A Plant Hallucinogen Used in Ritual Context in Brazil. *J. Nerv. Ment. Dis.*, v.184, n.2, p86-94, 1996.

GAMBELUNGHE, C., ARONI, K., ROSSI, R., MORETTI, L., BACCI, M. Identification of N,N-dimethyltryptamine and  $\beta$ -carbolines in psychotropic ayahuasca beverage. *Biomed. Chromatogr.*, v.22, p.1056-1059, 2008.

HALPERN, J.H., POPE, H.G.JR. Do hallucinogens cause residual neuropsychological toxicity? *Drug Alcohol Depend.*, v.53, n.3, p.247-56, 1999.

JACOB, M.S., PRESTI, D.E. Endogenous psychoactive tryptamines reconsidered: an anxiolytic role for dimethyltryptamine. *Med. Hypotheses.*, v.64, p.930-937, 2005.

JACOBS, B. How Hallucinogenic Drugs work. *Am. Sci.*, v.75, p.115-118, 1987.

KATZUNG, B.G. *Farmacologia Básica e Clínica*. 6ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1998. 1046p.

LABATE, B.C. A literatura brasileira sobre as religiões ayahuasqueiras. In: LABATE, B.C., *O uso ritual da ayahuasca*. Mercado de Letras, Edições e Livraria Ltda. Campinas, p.231-273, 2004.

LABATE, B.C., ARAÚJO, W.S. *O uso ritual da Ayahuasca*. 2ª ed. Campinas: Mercado de Letras Edições e Livraria Ltda.; 2004. 735p.

- LABIGALINE, E.J. *O uso de Ayahuasca em um contexto religioso por ex-dependentes de álcool*. (Tese) São Paulo: Universidade Federal de São Paulo/Escola Paulista de Medicina; 1998.
- LAING, R.R., SIEGEL, J.A. *Hallucinogens: A Forensic Drug Handbook*. 1ª ed. Academic Press; 2003. 290p.
- LUNA, L.E. Vegetalismo: Shamanism among the mestizo population of the Peruvian Amazon. *Journal of Ethnopharmacology*, v.11, p. 123-133, 1986.
- MCKENNA, D., TOWERS, G.H.N., ABBOTT, F. Monoamino Oxidase inhibitors in South American Hallucinogenic Plants: Tryptamine and  $\beta$ -Carboline constituents of Ayahuasca. *J. Ethnopharmacol.*, v,10, p.195-223, 1984.
- MCKENNA, D. Clinical investigations of the therapeutic potential of ayahuasca: rationale and regulatory challenges. *Pharmacol. Ther.*, v.102, p.111-129, 2004.
- MCKENNA, D.J., CALLAWAY, J.C., GROB, C.S. The Scientific Investigation of Ayahuasca: A Review of Past and Current Research. *The Heffer Review of Psychedelic Reseach*, v. 1, p.65-76, 1998.
- MELCHIOR, C., COLLINS, M.A. The route and significance of endogenous synthesis of alkaloids in animals. *CRC Critical Review in Toxicology*, v.9, p.313-356. 1982.

PELAEZ, M.C. Santo Daime, transcendência e cura. Interpretações sobre as possibilidades terapêuticas da bebida ritual. In: LABATE, B.C., O uso ritual da ayahuasca Mercado de Letras, Edições e Livraria Ltda.. Campinas, p.473-491, 2004.

PIRES, A.P.S., OLIVEIRA, C.D.R., MOURA, S., DORR, F.A., SILVA, W.A., YONAMINE, M. Gás Chromatographic Analysis of Dimethyltryptamine and  $\beta$ -Carboline Alkaloids in Ayahuasca, na Amazonian Psychoactive Plant Beverage. *J.Phytochem. Anal.*, v. 20, n. 2, p.149-53, 2009.

POMILIO, A.B., VITALE, A.A., CIPRIAN-OLLIVIER, J., CETKOVICH-BAKMAS, M., GÓMEZ, R., VÁZQUEZ, G. Ayahoasca: an experimental psychosis that mirrors the transmethylation hypothesis of schizophrenia. *J. Ethnopharmacol.*, v.65, n.1, p29-51, 1999.

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. *Psycopharmacology.*, v.154, p.85-95, 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. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, v. 306, p.73-83, 2003.

SHANON, B. Os conteúdos das visões da Ayahuasca. *MANA*, v.9, n.2, p.109-152, 2003.

SKLEROV, J., LEVINE, B., MOORE, K.A., KING, T. FOWLER, D. A fatal intoxication following the ingestion of 5-methoxy-N,N-dimethyltryptamine in an ayahuasca preparation. *J. Anal. Toxicol.*, v.29, p.838-841, 2005.

SMITH, R.L., CANTON, H., BARRET, R.J., SANDERS-BUSH, E. Agonist properties of N,N-dimethyltryptamine at 5-HT<sub>2A</sub> and 5-HT<sub>2C</sub> serotonin receptors. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, v.61, n.3, p.323-330, 1998.

STUCKEY, D.E., LAWSON, R., LUNA, L.E. EEG gamma coherence and other correlates of subjective reports during ayahuasca experiences. *J. Psychoactive Drugs*, v.37, n.2, p.163-78, 2005.

STRASSMAN, R.J., QUALLS, C.R. Dose-response study of N,N-dimethyltryptamine in humans. I. Neuroendocrine, autonomic, and cardiovascular effects. *Arch. Gen. Psychiatry.*, v.51, n.2, p.85-97, 1994.

STRASSMAN, R.J., QUALLS, C.R., UHLENHUTH, E.H., KELLNER, R. Dose-response study of N,N-dimethyltryptamine in humans. II. Subjective effects and

preliminary results of a new rating scale. *Arch. Gen. Psychiatry.*, v. 51, n.2, p.98-104, 1994.

SKLEROV, J., LEVINE, B., MOORE, K.A., KING, T. FOWLER, D. A fatal intoxication following the ingestion of 5-methoxy-*N,N*-dimethyltryptamine in an ayahuasca preparation. *J. Anal. Toxicol.*, v.29, p.838-841, 2005.

THOMPSON, A.C., NICOLLIER, G.F., POPE, D.F., Indolealkylamines of *Desmanthus illinoensis* and their growth inhibition activity. *J. Agric. Food Chem.*, v.35, p.301-305, 1987.

UMEZAWA, K., SHIRAI, A., MATSUSHIMA, T., SUGIMURA, T. Comutagenic effect of norharman and Harman with 2-acetylaminofluorene derivates. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, v.75, n.2, p.928-30, 1978.

VORCE, S.P., SKLEROV, J.H. A general screening and confirmation approach to the analysis of designer tryptamines and phenethylamines in blood and urine using GC-EI-MS and HPLC-electrospray-MS. *J Anal Toxicol.*, v.28, n.6, p.407-10, 2004.

YRITIA, M., RIBA, J., ORTUÑO, J., RAMIREZ, A., CASTILLO, A., ALFARO, Y., DE LA TORRE, R., BARBANOJ, M.J. Determination of *N,N*-dimethyltryptamine and  $\beta$ -carboline alkaloids in human plasma following oral administration of

Ayahuasca. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.*, v.779, p.271-281, 2002.



ANEXO IV – Artigo publicado *Phytochemical Analysis*

## Research Article

Phytochemical  
Analysis

Received: 6 March 2008,

Revised: 6 October 2008,

Accepted: 21 October 2008

Published online 12 January 2009 in Wiley InterScience

(www.interscience.wiley.com) DOI 10.1002/pca.1110

# Gas Chromatographic Analysis of Dimethyltryptamine and $\beta$ -Carboline Alkaloids in Ayahuasca, an Amazonian Psychoactive Plant Beverage

Ana Paula Salum Pires, Carolina Dizioli Rodrigues De Oliveira, Sidnei Moura, Felipe Augusto Dörr, Wagner Abreu E. Silva and Mauricio Yonamine\*

**ABSTRACT:**

**Introduction** – Ayahuasca is obtained by infusing the pounded stems of *Banisteriopsis caapi* in combination with the leaves of *Psychotria viridis*. *P. viridis* is rich in the psychedelic indole *N,N*-dimethyltryptamine, whereas *B. caapi* contains substantial amounts of  $\beta$ -carboline alkaloids, mainly harmine, harmaline and tetrahydroharmine, which are monoamine-oxidase inhibitors. Because of differences in composition in ayahuasca preparations, a method to measure their main active constituents is needed. **Objective** – To develop a gas chromatographic method for the simultaneous determination of dimethyltryptamine and the main  $\beta$ -carbolines found in ayahuasca preparations.

**Methodology** – The alkaloids were extracted by means of solid phase extraction ( $C_{18}$ ) and detected by gas chromatography with nitrogen/phosphorous detector.

**Results** – The lower limit of quantification (LLOQ) was 0.02 mg/mL for all analytes. The calibration curves were linear over a concentration range of 0.02–4.0 mg/mL ( $r^2 > 0.99$ ). The method was also precise (RSD < 10%).

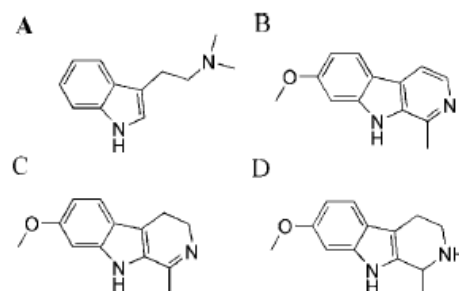
**Conclusion** – A simple gas chromatographic method to determine the main alkaloids found in ayahuasca was developed and validated. The method can be useful to estimate administered doses in animals and humans for further pharmacological and toxicological investigations of ayahuasca. Copyright © 2009 John Wiley & Sons, Ltd.

**Keywords:** Dimethyltryptamine;  $\beta$ -carbolines; ayahuasca; gas chromatography

**Introduction**

Ayahuasca, also known by the names Hoasca, Daime, Yajé, Natema and Vegetal, is a psychoactive plant tea originally used by shamans throughout the Amazon Basin in magico-religious practices and folk medicine of indigenous people (Riba *et al.*, 2003). This beverage is obtained by infusing the pounded stems of *Banisteriopsis caapi* in combination with the leaves of *Psychotria viridis*. *P. viridis* contains the psychedelic agent *N,N*-dimethyltryptamine (Fig. 1), whereas *B. caapi* contains  $\beta$ -carbolines such as harmine, harmaline and tetrahydroharmine (Fig. 1), which are potent monoamine oxidase (MAO) inhibitors. Dimethyltryptamine is not orally active itself because it is inactivated by peripheral MAO (present in liver and gut). However, the inhibition of MAO by  $\beta$ -carbolines allows the oral activity of dimethyltryptamine, enabling it to reach its site of action in the central nervous system. The synergistic interaction of these alkaloids is the basis of the psychotropic action of ayahuasca (McKenna, 2004).

In Brazil, ayahuasca has been incorporated in rituals of modern syncretic religious groups, mainly the Santo Daime and the União do Vegetal (UDV), where the beverage is reported to be used to facilitate self-knowledge and introspection. In 2004, the use of ayahuasca within religious context was officially recognised and



**Figure 1.** Chemical structures of the main ayahuasca alkaloids: (A) dimethyltryptamine, (B) harmine, (C) harmaline and (D) tetrahydroharmine.

\* Correspondence to: M. Yonamine, Department of Clinical and Toxicological Analysis, Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of São Paulo, Av. Prof. Lineu Prestes, 580 B13B, 05508-900, São Paulo, SP, Brazil. E-mail: yonamine@usp.br

Department of Clinical and Toxicological Analysis, Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of São Paulo, Brazil

Contract/grant sponsor: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP); Contract/grant number: 2006/00388-5.

protected by law in Brazil (Conselho Nacional Antidrogas Brasil, 2004), the only country where it currently enjoys legal protection, analogous to the status held by the Native American Church for the use of peyote (*Lophophora williamsii*) in the United States.

In recent years, the use of ayahuasca has spread outside South America and some religious groups have established in the United States and in several European countries (Riba *et al.*, 2001). As an increasing number of people have come into contact with this psychotropic tea, the beverage has begun to attract the attention of researchers interested in its pharmacological and toxicological aspects (Gable, 2007; Callaway *et al.*, 1999; Callaway, 2005; Riba and Barbanoj, 2005; Riba *et al.*, 2003).

Peruvian ayahuasca (100 mL) has been shown to contain dimethyltryptamine (60 mg), harmine (467 mg), harmaline (41 mg) and tetrahydroharmine (160 mg) using two-dimensional thin-layer chromatography, high-performance liquid chromatography and gas chromatography-mass spectrometry (McKenna *et al.*, 1984), whereas Brazilian ayahuasca (100 mL) has been shown to contain 24, 170, 20 and 107 mg respectively of the same four alkaloids using gas chromatography and high-performance liquid chromatography (Callaway *et al.*, 1996).

No detailed analytical procedure seems to have been previously reported for the simultaneous quantification of these alkaloids in ayahuasca tea. Usually, dimethyltryptamine is determined by gas chromatography using a nitrogen-phosphorous detector (GC-NPD) and  $\beta$ -carbolines by high-performance liquid chromatography (HPLC) in different procedures (Callaway *et al.*, 1996, 1999; Yritia *et al.*, 2002). However, Kikura-Hanajiri *et al.* (2005), simultaneously detected some hallucinogenic tryptamines/ $\beta$ -carbolines, including dimethyltryptamine, harmine and harmaline, using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) or liquid chromatography-electrospray ionisation-mass spectrometry (LC-ESI-MS).

In the present work, a method for simultaneous determination of the main active constituents found in ayahuasca was developed and validated. Solid-phase extraction (SPE) and gas-chromatography with a nitrogen-phosphorous detector (GC-NPD) was used to purify and quantify the analytes. The developed method can be useful to estimate administered doses in animals and humans for further pharmacological and toxicological investigations of ayahuasca.

## Experimental

**Reagents and chemicals.** Sodium borohydride, sodium borate, HPLC-grade methanol and acetonitrile were purchased from Merck (Darmstadt, Germany). Classic Sep-Pack<sup>®</sup> C<sub>18</sub> cartridges (360 mg) were purchased from Waters Co. (Bellefonte, PA, USA). Diphenhydramine, tryptamine, harmine hydrochloride and harmaline hydrochloride were purchased from Sigma Co. (St Louis, MO, USA). Eight samples of different ayahuasca preparations were obtained from a religious group settled in the city of Araçoiaba da Serra, São Paulo state, Brazil.

**Synthesis of tetrahydroharmine.** The synthesis of tetrahydroharmine was performed according to the procedure described by Callaway *et al.* (1996). In summary, harmaline hydrochloride (251 mg, 1.0 mmol) was slowly added to a methanolic sodium borohydride solution (38 mg, 1.0 mmol) at 0°C. After 40 min, the reaction mixture was acidified with HCl (1 M, 5.0 mL), then alkalinised with NaOH (5% m/v, 10 mL) and extracted with dichloromethane (2 × 20 mL). The organic layer was dried with

magnesium sulfate, filtered and evaporated under vacuum. The evaporated residue was twice recrystallised with ethanol (20 mL), generating off-white crystals with a melting point of 197°C. The structure was confirmed on the basis of the <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm):  $\delta$  1.36 (3H, d,  $J$  = 7.21, NHCHCH<sub>3</sub>); 2.66 (2H, t,  $J$  = 7.23, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH); 2.96 (2H, t,  $J$  = 7.22, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH); 3.27 (1H, q,  $J$  = 7.23, NHCHCH<sub>3</sub>); 3.76 (3H, s, OCH<sub>3</sub>); 6.69 (1H, d,  $J$  = 6.8, Ph); 6.76 (1H, s, Ph); 7.27 (1H, s, Ph); and ESI-MS ( $m/z$ ) data: 217 [M + H]<sup>+</sup>; 201 [M - CH<sub>3</sub> + H]<sup>+</sup>; 185 [M - OCH<sub>3</sub> + H]<sup>+</sup>.

**Synthesis of dimethyltryptamine.** The synthesis of dimethyltryptamine was performed according to a modified procedure based on the selective dimethylation method described by Giumanini *et al.* (1980). Sodium borohydride (57 mg, 1.5 mmol) was slowly added to a stirred solution of tryptamine (160 mg, 1.0 mmol) in tetrahydrofuran at 0°C. Afterwards, sulfuric acid (2 M, 5.0 mL) and an aqueous solution of formaldehyde (40% v/v, 2.0 mL) were also added. This solution was diluted with water and alkalinised with NaOH pellets until pH 14 was reached. The obtained product was extracted with diethyl ether (3 × 20 mL). The organic layer was dried with magnesium sulfate, filtered and evaporated under vacuum. The product was purified by means of a silica chromatographic column (eluted with *n*-hexane-ethyl acetate 80:20) and recrystallisation with *n*-hexane-ethyl acetate (80:20). White crystals with a melting point of 64°C were obtained with this procedure. The structure was confirmed on the basis of the <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm):  $\delta$  2.26 [s, 6H, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>]; 2.55 [t, 2H,  $J$  = 7.22, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>]; 2.63 [t, 2H,  $J$  = 7.23, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>]; 7.3-7.5 (m, 4H, Ph); 7.2 (s, 1H, C-H); and ESI-MS ( $m/z$ ) data: 189 [M + H]<sup>+</sup>; 145 [M - N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> + H]<sup>+</sup>; 117 [M - (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> + H]<sup>+</sup>.

**Preparation of standard solutions.** Stock solutions (10 mg/mL) of dimethyltryptamine, harmine, harmaline and tetrahydroharmine were each prepared with methanol in volumetric glassware. Stock standard solutions were stable for at least 30 days when stored in the freezer at -20°C. The stability was checked by preparing a new stock standard solution and comparing the detector responses obtained from freshly prepared dilutions of old and new stock standard solutions. Working solutions at concentrations of 1 mg/mL were also prepared in methanol by diluting stock solutions.

**GC-NPD analyses.** Analyses for dimethyltryptamine, harmine, harmaline and tetrahydroharmine were performed using an Agilent gas chromatograph model 6890 equipped with a nitrogen-phosphorous detector and 7683 series automatic injector (Little Falls, DE, USA). Chromatographic separation was achieved on an HP Ultra-2 fused-silica capillary column (25 m × 0.2 mm × 0.33  $\mu$ m film thickness) using ultra-pure-grade nitrogen as carrier gas at 0.6 mL/min in a constant flow rate mode. Injections (1  $\mu$ L) were made in split mode (ratio 1:20). The injector port and detector temperatures were 200 and 250°C respectively. The oven temperature was maintained at 150°C for 1 min; programmed at 10°C/min to 250°C with a hold at 250°C for 7 min.

**Ayahuasca sample extraction.** A sample solution containing ayahuasca (0.5 mL), borate buffer (pH 9.0, 3.0 mL) and the internal standard diphenhydramine (100  $\mu$ L of a solution of 1.0 mg/mL) was loaded onto a C<sub>18</sub> cartridge mounted on a vacuum manifold and conditioned with methanol (2.0 mL), deionised water (1.0 mL) and borate buffer (pH 9.0, 2.0 mL). The loaded cartridge was

further washed with deionised water (1.0 mL) and with a solution of acetonitrile–water (1:9, 1.0 mL). After drying the cartridges under full vacuum for 7 min, the elution of analytes was performed with methanol (2.0 mL). Of this solution, 1  $\mu$ L was injected in the GC-NPD system. The analytes were identified based on comparison of its relative retention time with the corresponding values of standards assayed in the same run. Quantification was based upon the ratio of the integrated peak area to the internal standard.

**Limit of detection (LOD) and lower limit of quantification (LLOQ).** The LOD and LLOQ were determined by an empirical method that consisted of analyzing a series of water samples containing decreasing amounts of the dimethyltryptamine, harmine, harmaline and tetrahydroharmine (Armbruster *et al.*, 1994). The LOD was the lowest concentration that presented an RSD that did not exceed 20% and the LLOQ the lowest concentration that presented an RSD that did not exceed 10% in six replicates.

**Recovery.** The recovery efficiency of the SPE method was evaluated by analyzing two sets of samples. Set A consisted of three concentrations each of dimethyltryptamine, harmine, harmaline and tetrahydroharmine, i.e. 0.3, 1.5 and 3.0 mg/mL, corresponding to the expected alkaloid concentrations in ayahuasca and each extracted as described, i.e. the processed samples. The analyses were performed in six replicates for each concentration. Sample set B was analysed in an identical manner except that the alkaloid standards, at the same concentrations, were added to the matrix after the SPE phase, i.e. the unprocessed samples. The unprocessed response represented 100% recovery. To both sets, internal standards were added prior to the extraction of the sample. The absolute recovery was evaluated by comparison of the mean response of alkaloids in the processed samples with those in the unprocessed samples.

**Linearity.** Aqueous samples of each of the alkaloids at 0.02, 0.1, 0.5, 1.0, 2.0 and 4.0 mg/mL were analysed in triplicate to assess linearity of response.

**Intra- and inter-assay precision.** Precision, defined as the relative standard deviation (RSD) or coefficient of variation (CV), was determined by analysing aqueous solutions of dimethyltryptamine, harmine, harmaline and tetrahydroharmine in the concentrations of 0.3, 1.5 and 3.0 mg/mL on three different days. The analyses were carried out in six replicates for each concentration and each day.

**Accuracy.** The accuracy of the entire SPE and GC-NPD method was evaluated by analysing, in triplicate, aqueous solutions of dimethyltryptamine, harmine, harmaline and tetrahydroharmine in the concentrations of 0.3, 1.5 and 3.0 mg/mL. The experimental concentrations, quantitated using the standard calibration curves, were then expressed as a percentage of the known concentration, i.e. mean measured concentration/nominal concentration  $\times$  100.

**Stability.** The stabilities of the analytes in an ayahuasca sample and a spiked water sample (1.5 mg/mL of each analyte) were evaluated after 24 h at room temperature. The stabilities of analytes in extract samples on the carousel were evaluated over an 8 h period. Stability tests were performed in triplicate.

## Results and Discussion

The ayahuasca beverage is unique among plant hallucinogens as its psychotropic activity is dependent on the synergistic interaction of the alkaloids present in two plants, i.e. *Banisteriopsis caapi* and *Psychotria viridis*. In recent years, an increasing interest has been observed in the scientific study of ayahuasca, including its botany, chemistry, pharmacology and toxicology. Since the basis for pharmacological and toxicological investigations is the qualitative and quantitative characterisation of its active constituents, a method was developed and validated for the determination of the main alkaloids, dimethyltryptamine, harmine, harmaline and tetrahydroharmine, found in ayahuasca samples. The method was based on the procedure described by Yritia *et al.* (2002) for the detection of  $\beta$ -carbolines in plasma samples using SPE and HPLC. In the current study, dimethyltryptamine could be extracted under the same conditions as those suitable for  $\beta$ -carbolines and analysed by GC-NPD.

Calibration curves were linear over the specified range (0.02–4.0 mg/mL). The linear regression equations and coefficients of correlation were: dimethyltryptamine ( $y = 8.9651x - 0.6738$ ;  $r^2 = 0.9971$ ); harmine ( $y = 3.9346x - 0.5288$ ;  $r^2 = 0.9946$ ); harmaline ( $y = 1.7309x + 0.0057$ ;  $r^2 = 0.9956$ ) and tetrahydroharmine ( $y = 10.052x - 1.5445$ ;  $r^2 = 0.9941$ ), where  $y$  and  $x$  represent the relationship between the peak area ratio (compound/internal standard) and the corresponding calibration concentrations, respectively.

The confidence parameters of the validated method (LOD, LLOQ, recovery, accuracy and intra- and inter-assay precision) for the determination of dimethyltryptamine, harmine, harmaline and tetrahydroharmine are shown in Table 1. Quantitative analysis indicated that analytes were stable in ayahuasca and in water at room temperature for 24 h since losses of analytes  $< 10\%$  were observed. Analytes were also stable on the sample extracts after 8 h on the carousel.

The method showed good linearity over a broad concentration range (0.02–4.0 mg/mL). The precision varied slightly indicating that the reproducibility is acceptable over the studied concentration range (CV  $< 10\%$ ). The solid-phase extraction (SPE) procedure produced clean extracts with good recovery (better than 68%). Good sensitivity was also obtained for all analytes (LLOQ = 0.02 mg/mL) using low volume of sample (0.5 mL).

The analytical method was applied to eight different ayahuasca preparations (Table 2). Typical GC-NPD chromatograms resulting from the analysis of an aqueous sample containing 0.5 mg/mL of each alkaloid and from an ayahuasca sample (sample 2, Table 2) derived from a religious group settled in Araçoiaba da Serra city, Brazil are shown in Fig. 2. Different concentrations were found among batches of ayahuasca, despite having the same origin. The discrepancy in alkaloid concentration can be explained by the different methods of preparation as well as the amounts and proportions of the source plants (McKenna, 2004). Also, alkaloid concentrations can vary considerably among plants and consequently the ayahuasca prepared with them (McKenna *et al.*, 1984). Therefore, depending on all these factors, different ayahuasca preparations can produce variable intensity in psychotropic response.

Although the described method is suitable for the reliable determination of dimethyltryptamine and some  $\beta$ -carboline alkaloids found in ayahuasca teas, the lower limits of quantification obtained do not allow its use to quantify these compounds in human plasma samples after an ayahuasca ingestion.

**Table 1.** Confidence parameters of the validated method for the determination of dimethyltryptamine, harmine, harmaline and tetrahydroharmine in ayahuasca samples

	Dimethyl-tryptamine	Harmine	Harmaline	Tetrahydroharmine
LOD (mg/mL)	0.01	0.01	0.01	0.01
LLOQ (mg/mL)	0.02	0.02	0.02	0.02
Recovery (%)				
C1	89.9	70.4	92.8	87.4
C2	78.7	87.8	95.9	99.0
C3	81.7	82.9	68.4	84.5
Intra-assay precision (RSD, %)				
C1	3.6	9.4	9.5	8.7
C2	2.6	2.3	6.5	8.9
C3	1.9	1.3	9.7	2.4
Inter-assay precision (RSD, %)				
C1	7.6	8.2	8.2	5.7
C2	6.3	2.2	6.4	1.4
C3	9.5	8.8	6.3	4.1
Accuracy (%)				
C1	95,5	105,4	94,0	102,6
C2	101,0	97,7	105,0	99,1
C3	99,6	100,5	97,1	100,2

LOD = limit of detection; LLOQ = limit of quantification; C1 = 0.3 mg/mL; C2 = 1.5 mg/mL; C3 = 3.0 mg/mL; RSD = relative standard deviation.

**Table 2.** Concentrations of alkaloids dimethyltryptamine, harmine, harmaline and tetrahydroharmine found in ayahuasca samples ( $n = 3$ )

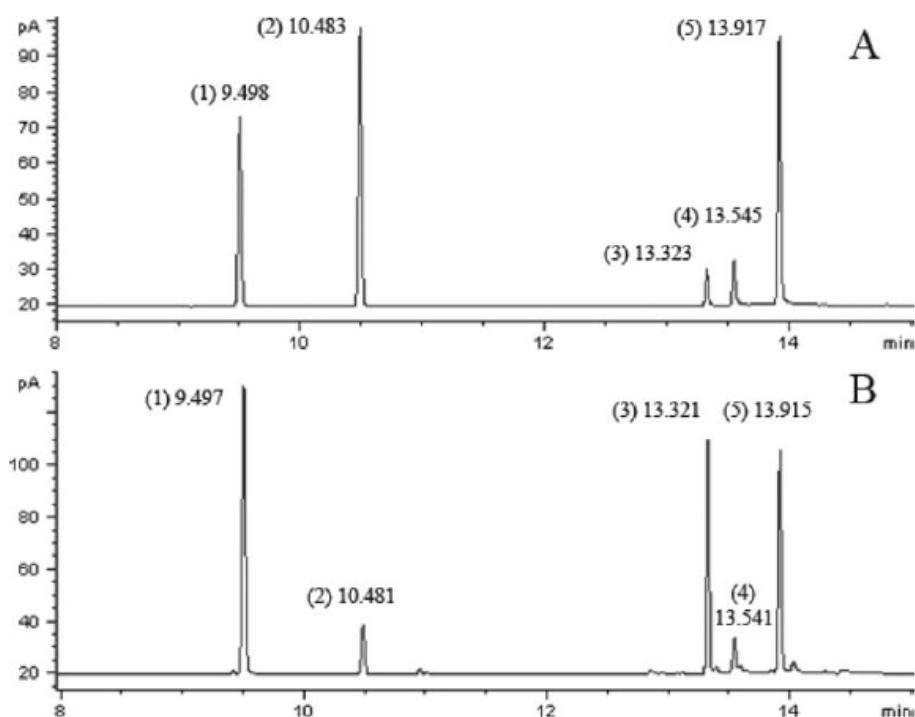
Sample number	Concentration (mg/mL)			
	Dimethyltryptamine	Harmine	Harmaline	Tetrahydroharmine
1	0.42 ± 0.02	0.62 ± 0.02	1.37 ± 0.06	0.35 ± 0.02
2	0.73 ± 0.04	0.83 ± 0.05	1.72 ± 0.05	0.67 ± 0.03
3	0.57 ± 0.03	0.61 ± 0.03	1.14 ± 0.05	0.40 ± 0.02
4	0.61 ± 0.01	0.47 ± 0.02	0.85 ± 0.04	0.40 ± 0.03
5	0.59 ± 0.02	0.52 ± 0.03	0.92 ± 0.03	0.36 ± 0.02
6	0.50 ± 0.01	0.44 ± 0.02	0.69 ± 0.02	0.27 ± 0.02
7	0.54 ± 0.02	0.37 ± 0.02	0.64 ± 0.02	0.21 ± 0.02
8	0.31 ± 0.01	0.44 ± 0.02	0.75 ± 0.03	0.25 ± 0.02

### Acknowledgements

Financial support from Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, grant no. 2006/00,388-5) is gratefully acknowledged.

### References

- Armbruster DA, Tillman MD and Hubbs LM. 1994. Limit of detection (LOD)/limit of quantitation (LOQ): comparison of the empirical and the statistical methods exemplified with GC-MS assays of abused drugs. *Clin Chem* **40**: 1233–1238.
- Conselho Nacional Antidrogas Brasil. Resolução no. 4, de 4 de novembro de 2004. Diário Oficial da União (DOU) da República Federativa do Brasil, 8 de novembro de 2004.
- Callaway JC. 2005. Fast and slow metabolizers of Hoasca. *J Psychoactive Drugs* **37**: 157–161.
- Callaway JC, Raymon LP, Hearn WL, McKenna DJ, Grob CS, Brito GS and Mash DC. 1996. Quantitation of *N,N*-dimethyltryptamine and harmala alkaloids in human plasma after oral dosing with ayahuasca. *J Anal Toxicol* **20**: 492–497.
- Callaway JC, McKenna DJ, Grob CS, Brito GS, Raymon LP, Poland RE, Andrade EO and Mash DC. 1999. Pharmacokinetics of Hoasca alkaloids in healthy humans. *J Ethnopharmacol* **65**: 243–256.
- Gable RS. 2007. Risk assessment of ritual use of oral dimethyltryptamine (DMT) and harmala alkaloids. *Addiction* **102**: 24–34.
- Giumanini AG, Chiavari G, Musiani MM and Rossi R. 1980. *N*-permethylation of primary and secondary aromatic amines. *Synthesis* 743–745.
- Kikura-Hanajiri R, Hayashi K, Saisho K and Goda Y. 2005. Simultaneous determination of nineteen hallucinogenic tryptamines/ $\beta$ -carbolines and phenethylamines using gas chromatography–mass spectrometry



**Figure 2.** GC-NPD chromatograms obtained with the practical use of this method to the analysis of samples: (A) a water sample spiked with 0.5 mg/mL of each alkaloid and (B) an ayahuasca sample (sample 2) deriving from a religious group settled in Araçoiaba da Serra city, Brazil. The analysis revealed the presence of the following concentration: (1) dimethyltryptamine (0.73 mg/mL); (3) tetrahydroharmine (0.67 mg/mL); (4) harmaline (1.72 mg/mL); and (5) harmine (0.83 mg/mL). (2) Peak corresponding to internal standard diphenhydramine.

and liquid chromatography–electrospray ionization–mass spectrometry. *J Chromatogr B* **825**: 29–37.

McKenna DJ. 2004. Clinical investigations of the therapeutic potential of ayahuasca: rationale and regulatory challenges. *Pharmacol Ther* **102**: 111–129.

McKenna DJ, Towers GHN and Abbott FS. 1984. Monoamine oxidase inhibitors in South American hallucinogenic plants: tryptamine and  $\beta$ -carboline constituents of ayahuasca. *J Ethnopharmacol* **10**: 195–223.

Riba J and Barbanoj MJ. 2005. Bringing ayahuasca to the clinical research laboratory. *J Psychoactive Drugs* **37**: 219–230.

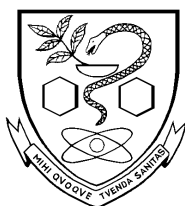
Riba J, Rodríguez-Fornells A, Urbano G, Morte A, Antonijuan R, Montero M,

Callaway JC and Barbanoj MJ. 2001. Subjective effects and tolerability of the South American psychoactive beverage ayahuasca in healthy volunteers. *Psychopharmacology* **154**: 85–95.

Riba J, Valle M, Urbano G, Yritia M, Morte A and Barbanoj MJ. 2003. Human pharmacology of ayahuasca: subjective and cardiovascular effects, monoamine metabolite excretion, and pharmacokinetics. *J Pharmacol Exp Ther* **306**: 73–83.

Yritia M, Riba J, Ortuño J, Ramirez A, Castillo A, Alfaro Y, De La Torre R and Barbanoj MJ. 2002. Determination of *N,N*-dimethyltryptamine and  $\beta$ -carboline alkaloids in human plasma following oral administration of ayahuasca. *J Chromatogr B* **779**: 271–281.

## ANEXO V



**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**

**Faculdade de Ciências Farmacêuticas**

Secretaria de Pós-Graduação

### **Informações para os Membros de Bancas Julgadoras de Mestrado/Doutorado**

1. O candidato fará uma apresentação oral do seu trabalho, com duração máxima de trinta minutos.

2. Os membros da banca farão a argüição oral. Cada examinador disporá, no máximo, de trinta minutos para argüir o candidato, exclusivamente sobre o tema do trabalho apresentado, e o candidato disporá de trinta minutos para sua resposta.

2.1 Com a devida anuência das partes (examinador e candidato), é facultada a argüição na forma de diálogo em até sessenta minutos por examinador.

3. A sessão de defesa será aberta ao público.

4. Terminada a argüição por todos os membros da banca, a mesma se reunirá reservadamente e expressará na ata (relatório de defesa) a aprovação ou reprovação do candidato, baseando-se no trabalho escrito e na argüição.

4.1 Caso algum membro da banca reprove o candidato, a Comissão Julgadora deverá emitir um parecer a ser escrito em campo exclusivamente indicado na ata.

4.2 Será considerado aprovado o aluno que obtiver aprovação por unanimidade ou pela maioria da banca.

5. Dúvidas poderão ser esclarecidas junto à Secretaria de Pós-Graduação: [pgfarma@usp.br](mailto:pgfarma@usp.br), (11) 3091 3621.

São Paulo, 18 de março de 2005.

Profa. Dra. Bernadette D. G. M. Franco  
Presidente da CPG/FCF/USP

**ANEXO VI – Ficha do Aluno**

---

Janus - Sistema Administrativo da Pós-Graduação



**Universidade de São Paulo**  
**Faculdade de Ciências Farmacêuticas**

**Documento sem validade oficial**

**FICHA DO ALUNO**

---

**9141 - 6014048/1 - Ana Paula Salum Pires**

**Email:** paulasalum@usp.br  
**Data de Nascimento:** 20/01/1970  
**Cédula de Identidade:** RG - 19.419.443 - SP  
**Local de Nascimento:** Estado de Minas Gerais  
**Nacionalidade:** Brasileira  
**Graduação:** Farmacêutico - Faculdade de Ciências Farmacêuticas e Bioquímicas Oswaldo Cruz - Faculdades Oswaldo Cruz - São Paulo - Brasil - 1994

---

**Curso:** Mestrado  
**Programa:** Toxicologia e Análises Toxicológicas  
**Data de Matrícula:** 11/07/2007  
**Início da Contagem de Prazo:** 11/07/2007  
**Data Limite:** 11/01/2010  
**Orientador:** Prof(a). Dr(a). Maurício Yonamine - 11/07/2007 até o presente. E.Mail: yonamine@usp.br  
**Proficiência em Línguas:** Inglês, Aprovado em 11/07/2007  
**Data de Aprovação no Exame de Qualificação:** Aprovado em 03/07/2009

**Data do Depósito do Trabalho:**  
**Título do Trabalho:**

**Data Máxima para  
Aprovação da Banca:**  
**Data de Aprovação da  
Banca:**

**Data Máxima para  
Defesa:**  
**Data da Defesa:**  
**Resultado da Defesa:**

**Histórico de Ocorrências:** Ingressou no Mestrado em 11/07/2007  
Matrícula de Acompanhamento em 03/07/2009

---

**Situação Atual:** Matrícula de Acompanhamento em 03/07/2009  
**Impresso em:** 04/01/10 15:49:43

**Janus** - Sistema Administrativo da Pós-Graduação



**Universidade de São Paulo**  
**Faculdade de Ciências Farmacêuticas**  
**Documento sem validade oficial**

**FICHA DO ALUNO**

**9141 - 6014048/1 - Ana Paula Salum Pires**

Sigla	Nome da Disciplina	Início	Término	Carga Horária	Cred.	Freq.	Conc.	Exc.	Situação
FBC5802-1/2	Seminários Gerais em Toxicologia I	30/07/2007	11/11/2007	30	2	90.0	A	N	Concluída
Atividade do Programa	Participou do XV Congresso Brasileiro de Toxicologia, com apresentação do trabalho "Desenvolvimento de método cromatográfico para quantificação simultânea dos princípios	18/11/2007	21/11/2007	-	1	0.0	-	-	-



	alcalóides em Ayahuasca", publicado em anais, v. 1, p. 32, 2007, Búzios, Rio de Janeiro (1)									
BMA5880-4/1	Análise Funcional das Estruturas do Sistema Circulatório	03/03/2008	04/05/2008	90	6	100.0	A	N	Concluída	
BMB5795-2/5	Neurofisiologia Básica	06/03/2008	15/05/2008	120	0	0.0	-	N	Matrícula cancelada	
EDM5791-4/10	Metodologia do Ensino Superior (Faculdade de Educação - Universidade de São Paulo)	12/03/2008	03/06/2008	120	8	100.0	A	N	Concluída	
FBC5747-1/4	Toxicologia Forense	15/04/2008	19/05/2008	75	5	100.0	A	N	Concluída	
FBC5741-5/2	Análise Toxicológica de Fármacos e Drogas que Causam Dependência	01/09/2008	05/10/2008	60	0	0.0	-	N	Matrícula cancelada	
Atividade do Programa	Publicação do trabalho "Gas chromatographic analysis of dimethyltryptamine and beta-carboline alkaloids in ayahuasca, an amazonian psychoactive plant beverage", na revista Phytochemical Analysis, v. 20, n. 2, p. 149-153, 2008, Londres, Inglaterra (1)	21/10/2008	21/10/2008	-	4	0.0	-	-	-	
FBC5784-2/1	Tópicos Avançados em Toxicologia II	09/03/2009	21/06/2009	30	2	85.0	B	N	Concluída	

	Créditos mínimos exigidos		Créditos obtidos
	Para exame de qualificação	Para depósito de dissertação	
<b>Disciplinas:</b>	25	25	28
<b>Atividades Programadas:</b>			
<b>Seminários:</b>			
<b>Estágios:</b>			
<b>Total:</b>	25	25	28

**Créditos Atribuídos à Dissertação: 71**

**Observações:**

1) Créditos atribuídos de acordo com o disposto no Artigo 65 do Regimento de Pós-Graduação e aprovados pela Comissão de Pós-Graduação, em Sessão de 21/05/2009.

**Conceito a partir de 02/01/1997:**

A - Excelente, com direito a crédito; B - Bom, com direito a crédito; C - Regular, com direito a crédito; R - Reprovado; T - Transferência.

Um(1) crédito equivale a 15 horas de atividade programada.

**Situação Atual:** Matrícula de Acompanhamento em 03/07/2009

**Impresso em:** 04/01/10 15:49:43