



Universidade Federal de Mato Grosso
Instituto de Ciências Exatas e da Terra
Departamento de Química
Curso: Bacharelado em Química

**INVESTIGAÇÃO DA AÇÃO DO TIPO ANTIDEPRESSIVA DE FUNGOS
ENDOFÍTICOS DO GUARANÁ (*Paullinia cupana*) EM CAMUNDONGOS**

Mariana Garott Ignácio Leite

2021

Mariana Garott Ignácio Leite

**Investigação da ação do tipo antidepressiva de fungos endofíticos do
Guaraná (*Paullinia cupana*) em camundongos**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à Coordenação do Curso de Bacharelado em Química da Universidade Federal de Mato Grosso, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título do Bacharel em Química.

Orientador: Prof. Dr. Bibiana Mozzaquatro Gai

Cuiabá-MT

2021

**Investigação da ação do tipo antidepressiva de fungos endofíticos do
Guaraná (*Paullinia cupana*) em camundongos**

BANCA EXAMINADORA:

Prof.^a Dr.^a Bibiana Mozzaquatro Gai
(UFMT, orientadora)

Prof.^a Dr.^a Claudia Marlise Balbinotti Andrade
(UFMT)

Prof.^a Dr.^a Mayara Peron Pereira
(UFMT)

AGRADECIMENTOS

Antes da mais nada, gostaria de agradecer a minha mãe Luciana Garott que sempre me apoiou e incentivou e a meu irmão, Pedro Henrique, que apesar de me encher o saco, sempre me apoiou. A minha tia, Giovana Garuti que me colheu em sua casa no início da faculdade.

Aos amigos que fiz durante a faculdade. Especialmente Douglas Lisboa, Maria Eduarda Silva, Andrielle Teodoro e Gabriela Pierdoná onde compartilhamos ótimos momentos não apenas na faculdade, onde a amizade superou trabalhos em grupo, jogos de uno e jogos de tabuleiros no Poltrona Nerd Bar com as quintas-feiras da coca e vários almoços de domingo, agradeço a vocês por sempre me apoiarem, pela paciência e irmandade.

Também agradeço ao Samuel Correia que me apresentou ao laboratório de bioquímica, permitindo iniciasse essa pesquisa e muitas outras. Aos companheiros de laboratório de bioquímica pelos ensinamentos e uma convivência divertida, Jadyellen Rondon, Edgar Allebrandt, Stephanie Santos, Paulo Medeiros e o Douglas Lisboa.

Aos amigos que mesmo em experimentos realizados no sábado ou aos domingos compareciam e faziam companhia, além de alguns nomes já citados, Wenison Souza. Ao pessoal do laboratório de orgânica que sempre me deixava usar o ultrassom e tomar café com eles, sempre foram muito receptivos e amigáveis.

Aos companheiros de cinema que me ajudavam a me desestressar, e que me viciaram mais ainda em filmes. Agradeço às pré-estreias que me levaram e aos momentos cômicos discutindo teorias sobre os filmes.

Agradeço aos professores e técnicos do Departamento de Química, pelos ensinamentos e auxílios que proporcionaram o meu crescimento na formação acadêmica.

E por fim, sou muito grata a Prof.^a Dr.^a Bibiana Mozzaquatro Gai, que me deu oportunidade de ser sua orientada e participar da pesquisa, e a Ana Paula Frasson que introduziu os fungos do guaraná e compartilhou muitos conhecimentos comigo. Ambas são pessoas maravilhosas, que considero amigas e que sempre lembrarei com muito carinho.

RESUMO

As ações farmacológicas da *P. cupana*, popularmente conhecida como guaraná, apresenta fungos endofíticos em diversas partes de sua constituição, que são fontes de substâncias bioativas naturais de uso terapêutico. Em vista disso, o principal objetivo deste trabalho foi investigar se os fungos endofíticos isolados das raízes e sementes do guaraná afetam a atividade da monoaminoxidase cerebral *in vitro* e induzem ações comportamentais do tipo antidepressivas em camundongos Swiss. Cinco fungos extraídos de sementes e raízes do guaraná foram testados, *F. solani*, *G. zaeae*, *G. acutata*, *M. terrestris* e *P. asparagi*. A monoaminoxidase é uma enzima mitocondrial responsável pela degradação de neurotransmissores e apresenta duas isoformas, MAO-A e MAO-B. Os inibidores da monoaminoxidase diminuem a degradação das monoaminas aumentando os níveis de monoaminas liberadas nas fendas sinápticas, conseqüentemente aumentando a atividade monoaminérgica, possuindo o potencial de produzir uma ação semelhante a antidepressiva. Nossos resultados demonstraram que, com exceção do extrato de *G. zaeae*, sendo excluído do estudo das isoformas, os demais extratos foram eficazes na redução da atividade total da MAO na concentração de 100 µg/mL, mas com diferentes graus de inibição. Para o estudo das isoformas MAO-A e MAO-B, nossos resultados mostraram que os fungos endofíticos afetam ambas as isoformas, mas parecem inibir principalmente o subtipo B em concentrações consideradas baixas (em torno de 100 µg/mL). Os testes comportamentais realizados neste trabalho foram o teste de natação forçada (FST) e o teste de suspensão pela cauda (TST) são amplamente utilizados para avaliar a atividade antidepressiva em roedores. Ambos os testes são suportados pela hipótese de que roedores, quando submetidos a uma situação sem saída e aversiva, alternam seu comportamento entre períodos de agitação e imobilidade na tentativa de escapar do evento estressante. Os antidepressivos tendem a encurtar a duração total da imobilidade e aumentar o tempo do primeiro episódio de latência para a imobilidade no FST e no TST. Neste estudo, todos os extratos foram administrados aos camundongos na dose de 300 mg/Kg pela via intragástrica (por exemplo). Nossos resultados mostraram que o extrato de *M. terrestris* reduziu o tempo total de imobilidade tanto no TST quanto no FST e aumentou o tempo para o primeiro episódio de latência no TST em 106%, mas não no FST. *P. asparagi* não induziu alterações comportamentais, enquanto o extrato de *F. solani* reduziu significativamente o tempo total de imobilidade e aumentou a latência para o primeiro episódio de imobilidade em ambos os testes. *G. acutata* reduziu o tempo total de imobilidade em 30% e aumentou a latência em 96,1% no TST; no TNF, apesar de não alterar a latência para o primeiro episódio de imobilidade, reduziu o tempo de imobilidade total em 25,7%. Animais tratados com extratos também foram avaliados no teste de campo aberto (OFT) para descartar o efeito psicoestimulante, que poderia influenciar na interpretação dos dados para TST e FST. Os animais tratados com extrato de *G. acutata* apresentaram um aumento significativo no número de cruzamentos (32,3%) e no número de criações (69,7%), indicando um efeito semelhante a um psicoestimulante. Para os demais extratos fúngicos avaliados não houve alterações na atividade locomotora e exploratória. Por fim, embora iniciais nossos resultados sugiram que extratos de fungos endofíticos extraídos do guaraná são agentes promissores para futuros estudos com foco em tratamentos antidepressivos.

Palavras-chaves: depressão, extratos de fungos, monoaminoxidase, teste de suspensão de cauda, teste do campo aberto, teste do nado forçado.

ABSTRACT

Paulinia cupana, popularly known as guarana, presents endophytic fungi in several parts of its constitution, which are sources of natural bioactive substances that have therapeutic use. The main objective of this work was to investigate whether endophytic fungi isolated from the roots and seeds of guarana affect the activity of cerebral monoamine oxidase *in vitro* and/or induce behavioral antidepressant-like actions in Swiss mice. Five fungi extracted from guarana seeds and roots (*F. solani*, *G. zaeae*, *G. acutata*, *M. terrestris*, and *P. asparagi*) were tested. Monoamine oxidase is a mitochondrial enzyme responsible for the degradation of neurotransmitters and has two isoforms, MAO-A and MAO-B. Monoamine oxidase inhibitors handle decreasing the degradation of monoamines increasing the levels of monoamines released in the synaptic clefts, so rising the monoaminergic activity, owning the potential to produce an antidepressant-like action. Our results showed that, except for the *G. zaeae* extract, being excluded from the study of isoforms, the other extracts were effective in reducing the total MAO activity at the concentration of 100 µg/mL, but with different degrees of inhibition. For the study of MAO-A and MAO-B isoforms, our results showed the endophytic fungi affect both isoforms but seem to inhibit mainly the subtype B at concentrations considered low (around of 100 µg/mL). The behavioral tests performed in this work, forced swim test (FST) and tail suspension test (TST) are widely used to assess antidepressant-like activity in rodents. Both tests are supported by the hypothesis that rodents, when subjected to a dead-end and aversive situation, alternates its behavior between periods of agitation and immobility in an attempt to escape the stressful event. Antidepressants tend to shorten the total duration of immobility and increase the time to the first episode of latency to immobility in the FST and TST. In this study, all extracts were administered to the mice at the dose of 300 mg/Kg by the intragastric (i.g.) route. Our results showed the *M. terrestris* extract reduced the total immobility time in both TST and FST and increased the time to the first latency episode in TST by 106%, but not in the FST. *P. asparagi* did not induce behavioral changes, whereas *F. solani* extract significantly reduced the total time of immobility and increased latency for the first episode of immobility in both tests. *G. acutata* reduced the total immobility time by 30% and increased latency by 96.1% in TST; in TNF, despite not changing latency for the first episode of immobility, it reduced total immobility time by 25.7%. Animals treated with extracts were also evaluated in the open field test (OFT) in order to discard psychostimulant effect, which could influence the interpretation of data for TST and FST. Animals treated with *G. acutata* extract showed a significant increase in the number of crossings (32.3%) and the number of rearings (69.7%) indicating a psychostimulant-like effect. For the other fungi extracts evaluated there was no changes in locomotor and exploratory activity. Finally, although initial our results suggest extracts of endophytic fungi extracted from guarana are promising agents for further studies focusing on antidepressant treatments.

Keywords: depression, fungal extracts, monoamine oxidase, tail suspension test, open field test, forced swim test.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Efeito da administração do extrato de *Fusarium solani* (cepa 41BDA) sobre o tempo total de imobilidade e a latência para o primeiro episódio de imobilidade no teste da suspensão da cauda (A e B, respectivamente) e no teste do nado forçado (C e D) em camundongos.

Figura 2. Efeito da administração do extrato de *Glomerella acutata* (cepa 15S) sobre o tempo total de imobilidade e a latência para o primeiro episódio de imobilidade no teste da suspensão da cauda (A e B, respectivamente) e no teste do nado forçado (C e D) em camundongos.

Figura 3. Efeito da administração do extrato de *Mycoleptodiscus terrestris* (cepa 30TSA) sobre o tempo total de imobilidade e a latência para o primeiro episódio de imobilidade no teste da suspensão da cauda (A e B, respectivamente) e no teste do nado forçado (C e D) em camundongos.

Figura 4. Efeito da administração do extrato de *Phomopsis asparagi* (cepa 38TSA) sobre o tempo total de imobilidade e a latência para o primeiro episódio de imobilidade no teste da suspensão da cauda (A e B, respectivamente) e no teste do nado forçado (C e D) em camundongos.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Fungos endofíticos isolados das sementes e raízes da *Paullinia cupana* usados no preparo dos extratos estudados.

Tabela 2. Efeito dos extratos de fungos endofíticos sobre a atividade da monoamonooxidase (MAO) total em cérebro de camundongos *in vitro*.

Tabela 3. Efeito dos extratos de fungos endofíticos sobre a atividade da isoforma A da monoamonooxidase (MAO-A) em cérebro de camundongos *in vitro*.

Tabela 4. Efeito dos extratos de fungos endofíticos sobre a atividade da isoforma B da monoamonooxidase (MAO-B) em cérebro de camundongos *in vitro*.

Tabela 5. Efeito do tratamento agudo com o extrato de fungos endofíticos sobre as atividades locomotora e exploratória de camundongos no teste do campo aberto (TCA).

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5-HT – 5-hidroxitriptamina, serotonina

AD – Adrenalina

DA – Dopamina

GABA – Ácido gama-aminobutírico

i.g. – Intragástrica

IMAOs – Inibidores de Monoaminoxidase

MAO – Monoaminoxidase

MAO-A – Monoaminoxidase isoforma A

MAO-B – Monoaminoxidase isoforma B

MAO-T – Monoaminoxidase total

NA – Noradrenalina

NE – Norepinefrina

TCA – Teste de Campo Aberto

TNF – Teste de Nado Forçado

TSC – Teste de Suspensão de Cauda

SUMÁRIO

1	Introdução	1
2	Revisão da Literatura	2
2.1.1	Depressão	2
2.1.2	Modelos animais no estudo pré-clínico da depressão	3
2.1.3	Inibidores da monoamonooxidase	4
2.1.4	Fungos endofíticos	6
2.1.5	Paullinia cupana	9
3	Objetivos	11
3.1	Objetivo Geral	11
3.2	Objetivos específicos	11
4	Materiais e Métodos	12
4.1	Cultivo dos fungos e Preparação dos Extratos	12
4.2	Animais	12
4.3	Atividade da monoamonooxidase (MAO) cerebral <i>in vitro</i>	13
4.3.1	Preparação da Membrama (Fração P2)	13
4.3.2	Investigação da capacidade da inibição da enzima MAO	13
4.4	Testes comportamentais	14
4.4.1	Teste de Suspensão da Cauda (TSC)	14
4.4.2	Teste do Nado Forçado (TNF)	15
4.4.3	Teste do Campo Aberto (TCA)	15
4.5	Análises Estatísticas	15
5	Resultados e Discussões	16
6	Considerações finais	27
7	Referências Bibliográficas	28

1 Introdução

A depressão é uma doença neuropsiquiátrica altamente prevalente em grande parte da população mundial, causando prejuízos sociais e econômicos ao indivíduo. Os transtornos depressivos, juntamente com transtornos de ansiedade, são os diagnósticos de doenças mentais mais comuns nos dias de hoje, e os sintomas variam em gravidade e duração, podendo ser leves, moderados ou graves, não apresenta uma faixa etária definida, e pode ser desencadeada por eventos estressantes ocorridos durante a vida, por exemplo, a perda de um ente querido, desemprego, pobreza, problemas causados por toxicodependência (álcool, cocaína, anfetaminas etc.), entre outros fatores que podem servir como gatilho (WHO, 2020). Os principais sintomas da depressão são caracterizados por um estado de tristeza permanente, perda de interesse e/ou prazer, sentimento de culpa e baixa autoestima. (THASE, 2013; WHO, 2020).

Atualmente os tratamentos para a depressão têm como foco a redução dos sintomas desta doença, recondicionando a atividade social e ocupacional, e a redução das chances de uma possível recaída. Um dos tratamentos que se mostra mais eficaz é através do uso de antidepressivos, formados por uma diversidade de medicamentos. No entanto, estas medicações apresentam efeitos colaterais que contribuem para o abandono do tratamento, como alterações cognitivas e disfunção erétil, e muitos dos pacientes apresentam refratariedade à essas terapias (MILLAN, 2013).

Em vista disso, é de grande importância a pesquisa por novas substâncias bioativas que tenham ação do tipo antidepressiva, que futuramente possam ser usadas como agentes terapêuticos para o tratamento de depressão, com a finalidade de tornar a terapia ainda mais efetiva e/ou diminuir os efeitos indesejados que as drogas atuais apresentam. Neste trabalho, destacamos o papel das moléculas derivadas de produtos naturais, em específico as produzidas por fungos endofíticos.

Os fungos fazem parte de um grupo de microrganismos bastante variados, podendo ser encontrados em todos os nichos ecológicos (ALEXOPOULOS et al., 1996). Apresentam uma grande riqueza de espécies, aferindo-se a existência de cerca de 1,5 milhões de fungos ao reino Fungi (HAWKSWORTH, 2001). Eles apresentam grande valor e importância econômica para uma gama de indústrias e,

nas últimas décadas, houve um aumento no interesse de estudos dos fungos como produtoras de substâncias naturais bioativas para uso terapêutico (STONE et al., 2000). Os fungos endofíticos, em especial, demonstram potencial a serem explorados quanto suas ações farmacológicas produzidas por seus metabólitos secundários, que são moléculas bioativas promissoras, possuindo baixo peso molecular e com uma bioquímica única, o que faz com que apresentem potenciais favoráveis de aplicação como antibióticos, antioxidantes, antivirais, antitumorais, entre outros (BÉRDY, 2005). Explorar os efeitos de fungos endofíticos e seus metabólitos secundários na atenuação de sintomas relacionados a doenças neuropsiquiátricas torna-se interessante em pesquisa científica, uma vez que existem poucos trabalhos disponíveis na literatura a respeito deste tema.

2 Revisão da Literatura

2.1 Depressão

A depressão é uma doença neuropsiquiátrica que envolve alterações de funções orgânicas, do humor e do pensamento, afetando cerca de 21% da população mundial atualmente (WHO, 2020). Os transtornos depressivos são caracterizados por um estado de sentimentos de tristeza, culpa, baixa autoestima, perda de interesse e/ou prazer, dificuldade de concentração, déficit cognitivo, entre outros sintomas que podem variar em gravidade e duração podendo ser leve, moderada e grave, de duração longa, recorrente ou duradora (THASE, 2013; WHO, 2020). O indivíduo com depressão ainda pode apresentar redução na libido e no apetite, insônia, retardo psicomotor, fala e pensamentos negativos; com o agravamento do caso, podem aparecer ideias de morte ou ideação suicida, levando a tentativas de terminar com a própria vida (WHO, 2020).

O desenvolvimento de transtornos depressivos não acontece em faixa etária definida, e pode ser desencadeado por eventos estressantes que podem ocorrer durante a vida, por exemplo, a perda de um ente querido, desemprego, pobreza, problemas causados por toxicod dependência (álcool e drogas), entre outros gatilhos (WHO, 2020).

Apesar de existirem uma grande variedade de pesquisas e estudos sobre a doença, até este momento, há uma falta de melhor entendimento sobre ela de um

ponto de vista psicológico, etiológico e farmacológico, sendo muitas das causas ainda desconhecidas. A teoria bioquímica da depressão mais comumente utilizada baseia-se na hipótese das monoaminas e apresenta respaldo nos efeitos de fármacos que diminuem os sintomas da depressão e, também seus efeitos bioquímicos (MILLAN, 2004, 2006, 2013).

O mecanismo de ação das drogas usadas para o tratamento desta doença neuropsiquiátrica envolve uma grande quantidade de neurotransmissores. A hipótese das monoaminas tem como base a deficiência serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT), noradrenalina (NA), norepinefrina (NE), adrenalina (AD) e a dopamina (DA), neurotransmissores responsáveis pela sensação de bem-estar e felicidade, e é muito usada para explicar os sintomas depressivos. Outros neurotransmissores também podem estar envolvidos na fisiopatologia da depressão e em sua terapia, como o ácido gama-aminobutírico (GABA), glutamato e acetilcolina. Além disso, alterações na plasticidade sináptica e neurogênese hipocampal também estão associadas à fisiopatologia da depressão (ALTAMURA et al., 2008).

Em geral, substâncias com ação do tipo antidepressiva atuam aumentando as concentrações das monoaminas na fenda sináptica o que, em parte, pode ser associada ao seu efeito farmacológico. Apesar dos progressos significativos feitos na terapia da depressão, nem todos os indivíduos que recebem tratamento respondem aos antidepressivos que se tem disponíveis no mercado atualmente, e a resposta terapêutica pode requerer várias semanas ou meses de tratamento (DUMAN et al., 2000; WONG e LICINIO, 2001). Independentemente do antidepressivo usado no tratamento, em cerca de 30% a 50% dos casos de depressão, os pacientes não respondem suficientemente bem ao tratamento, e em alguns casos sofrem com o efeito refratário (SANACORA e BANASR, 2013).

2.2 Modelos animais no estudo pré-clínico da depressão

Na pesquisa por novas drogas para o tratamento da depressão, a utilização de modelos experimentais que envolvem estresse é muito comum. Os animais experimentais, principalmente roedores, respondem adequadamente à terapia com drogas antidepressivas, pois desenvolvem comportamentos que mimetizam alguns sintomas da depressão apresentados por humanos (MUSAZZI et al., 2011).

Os testes de nado forçado e suspensão de cauda são amplamente usados para avaliação da atividade antidepressiva (CASTAGNÉ et al., 2006; PETIT-DEMOULIERE et al., 2005). Ambos são apoiados na hipótese de que o animal, quando submetido a uma situação sem saída e aversiva, alterna seu comportamento entre períodos de agitação e períodos de imobilidade, na tentativa de escapar do evento estressante.

O teste do nado forçado (TNF) pode ser nominado também de teste de desespero comportamental, e é um dos testes mais usados para rastreamento de antidepressivos. Inicialmente foi desenvolvido com ratos, e em seguida adaptado para camundongos (PORSOLT et al., 1977a, 1977b, 1978). Este teste foi descrito primeiramente por Porsolt et al. (1977a,b) como um “teste de rastreio primário para antidepressivos” e baseia-se na observação de que quando colocado em um cilindro contendo água, o roedor se torna rapidamente imóvel após seguidas tentativas malsucedidas de fuga. Observa-se os parâmetros de tempo para o primeiro episódio de imobilidade e tempo total de duração da imobilidade. Considera-se comportamento do tipo depressivo quando o animal cessa totalmente os movimentos (PORSOLT et al., 1977a, 1977b, 1978).

O teste da suspensão da cauda (TSC) foi descrito pela primeira vez por Steru et al. (1985), e possui como base os mesmos princípios do TNF. O animal é pendurado pela cauda a uma certa altura do chão e observa-se comportamentos relacionados à imobilidade e/ou tentativas de escape desta situação estressante. Quando o animal cessa os movimentos, assume-se que ele está adentrando em um estado do tipo depressivo (THIERRY et al., 1984).

Ambos os testes apresentam uma boa resposta a drogas antidepressivas. Os antidepressivos tendem a diminuir a duração total da imobilidade e aumentar o tempo para o primeiro episódio de latência para imobilidade (PORSOLT, 1981). São considerados bons modelos para a triagem de antidepressivos, pois apresentam uma forte sensibilidade a alterações nas concentrações de monoaminas cerebrais (ANISMAN et al., 1979).

2.3 Inibidores da monoaminoxidase

A monoaminoxidase (MAO) é uma enzima mitocondrial responsável pela degradação de uma grande variedade de substratos, incluindo neurotransmissores

cerebrais (MORINAN e GARRAT, 1985). Esta enzima está presente sob duas isoformas, MAO-A e MAO-B, que diferem na distribuição tecidual, na especificidade do substrato e na sensibilidade a drogas. A MAO-A é encontrada no encéfalo, principalmente em neurônios noradrenérgicos e dopaminérgicos, mas também é identificada na placenta, fígado, intestino, glândula tireoide e coração. Já a MAO-B é encontrada em neurônios serotoninérgicos, e em órgãos como fígado, rins e pâncreas (WESTLUND et al., 1988; BORTOLATO e SHIH, 2011; KALUDERCIC et al., 2014).

A MAO-A é responsável pela metabolização tanto da serotonina quanto da noradrenalina, com baixa afinidade pela dopamina (MORINAN e GARRAT, 1985). A MAO-B, preferencialmente, metaboliza a dopamina, e está associada à prevenção de processos neurodegenerativos, como o Alzheimer (STAHL, 2000).

Estudos indicam que o envolvimento de várias vias neurais está relacionado com o desenvolvimento da depressão. Apesar dos fundamentos biológicos da depressão ainda não serem bem esclarecidos e as causas permanecerem desconhecidas, a hipótese monoaminérgica é a mais utilizada para explicar a origem dos transtornos depressivos (MILLAN, 2004, 2006, 2013). Esta hipótese define que a depressão é uma doença causada pelo déficit de neurotransmissores em sinapses monoaminérgicas (SCHILDKRAUT, 1965), ou seja, uma deficiência na transmissão de neurotransmissores como a 5-HT, NA, AD, NE e DA. Um dos primeiros tratamentos para transtornos depressivos envolve o uso de inibidores da MAO (IMAOs), que aumentam a concentração de monoaminas na fenda sináptica por reduzir a sua degradação (RANG e DALE, 2011). Os primeiros IMAOs não eram capazes de distinguir entre as duas isoformas MAO-A e MAO-B, e causavam inibição irreversível da enzima, tornando-se fármacos de última escolha clínica. Nas últimas décadas, com o desenvolvimento de inibidores reversíveis e com seletividade entre as isoformas, a utilização clínica tornou-se viável e seu uso foi ampliado, já que apresentam menos efeitos colaterais e menor interações com outros fármacos em comparação aos primeiros (GOODMAN e GILMAN, 2012; RANG e DALE, 2011).

Em geral, os inibidores da MAO causam um aumento na quantidade de monoaminas liberadas nos terminais nervosos, aumentando, assim, a atividade monoaminérgica, podendo produzir uma ação do tipo antidepressiva (NEVES, 2015).

Além de sua utilização clínica como antidepressivos, alguns IMAOS são promissores no tratamento de doenças neurodegenerativas, em particular as que envolvem alterações/prejuízos na transmissão dopaminérgica, como doença de Parkinson e Alzheimer. Nesses casos, destacam-se as ações específicas sobre a isoforma B da MAO (GOODMAN e GILMAN, 2012).

2.4 Fungos endofíticos

Os fungos fazem parte de um grupo de microrganismos eucarióticos bastante variado, e podem ser encontrados em todos os nichos ecológicos (ALEXOPOULOS et al., 1996). De acordo com Hawksworth (2001), em termos de riqueza de espécies, o reino Fungi é congênera aos insetos, aferindo-se a existência de cerca 1,5 milhões de fungos. Eles desempenham ainda um importante papel na manutenção e equilíbrio dos ecossistemas, como a ciclagem e transporte de nutrientes, e também na decomposição da matéria orgânica (ALEXOPOULOS et al., 1996; CARLILE & WATKINSON, 1997; HAWKSWORTH, 2001; MUELLER et al., 2004).

O reino Fungi é composto por microrganismos macroscópicos ou microscópicos, eucariotos, que apresentam respiração aeróbica ou anaeróbica facultativa, podendo ser multinucleados ou uninucleados. Manifestam-se sob forma unicelular, filamentosa ou em forma de cogumelo (carnudo), sendo classificados como quimio-heterotróficos e alimentando-se por absorção (ALEXOPOULOS et al., 1996; CARLILE & WATKINSON, 1997; MUELLER et al., 2004).

Determinadas espécies são importantes patógenos de plantas, animais e até do homem, outras espécies apresentam a capacidade de estabelecer uma relação do tipo mutualística com seu hospedeiro (ALEXOPOULOS et al., 1996; HAWKSWORTH, 2001; MUELLER et al., 2004). Algumas expressam significativa associação mutualística entre fungos micorrízicos arbusculares com plantas, em especial as leguminosas, onde o fungo oferece proteção e aumento de absorção de nutriente à planta hospedeira (ALEXOPOULOS et al., 1996; HAWKSWORTH, 2001).

Os fungos são fontes de substâncias naturais bioativas que possuem uso terapêutico (STONE et al., 2000). Apresentam grande valor e importância econômica para indústrias alimentícia, farmacêutica e agricultura em geral,

podendo ser utilizados em processos fermentativos de pães, bebidas alcoólicas (forma de leveduras), leites fermentados, queijos e em outra grande gama de produtos alimentícios (ALEXOPOULOS et al., 1996; CARLILE & WATKINSON, 1997; HAWKSWORTH, 2001; MUELLER et al., 2004). Muitos medicamentos que são comercializados e utilizados atualmente são derivados de metabólitos secundários ou de processos fermentativos de fungos (ARNOLD et al., 2000; TAN & ZOU, 2001; STROBEL, 2003; FERRARA, 2006). Os fungos produzem metabólitos secundários de interesse para indústrias farmacêuticas, como na produção de antibióticos e esteroides. Em agroindústrias, esses microrganismos constituem agentes de controle biológico de insetos e nematoides, com a produção de fito hormônios (ALEXOPOULOS et al., 1996; CARLILE & WATKINSON, 1997; HAWKSWORTH, 2001; MUELLER et al., 2004).

Nas últimas décadas, a pesquisa de fungos endofíticos tem despertado interesse. Fungos endofíticos possuem grandes potenciais a serem explorados quanto suas ações farmacológicas, já que possuem uma relação mutualística com seus hospedeiros e, a princípio, podem produzir uma variedade de moléculas bioativas (TAN & ZOU, 2001; STROBEL; DAISY; et al., 2004; FERRARA, 2006). Grande parte dos fungos endofíticos pertence ao filo *Ascomycota* e ao grupo de fungos conidais, mas há fungos que são dos grupos *Zigomycota*, *Chytridiomycota*, *Basidiomycota* e *Glomeromycota* (SCHULZ et al., 1999). Os fungos endofíticos são conhecidos por não causarem doença à planta hospedeira, como os fungos patógenos, e diferenciam-se dos epifíticos que habitam a superfície dos vegetais (AZEVEDO, 1999). Espécie hospedeira, característica local, tipo de vegetação, idade e tecido infectado, influenciam na composição de comunidades fúngicas e na frequência de infecção (STONE, 2004).

Os fungos endofíticos dispõem de uma riqueza bioquímica que ainda não foi muito explorada. São microrganismos que podem passar parte ou todo o ciclo de vida colonizando de forma assintomática os tecidos internos de plantas vivas (SAIKKONEN et al., 1998; CAO et al., 2002). Não apenas os fungos, mas há registros de bactérias, protozoários e nematódeos vivendo como microrganismos endofíticos (GAMBOA & BAYMAN, 2001).

Os metabólitos secundários dos fungos endofíticos são fontes bastante promissoras de substâncias naturais bioativas que merecem ser estudadas devido ao seu potencial de utilização na indústria e na medicina (STROBEL & DAISY,

2004; GUO et al., 2008). Seus metabólitos secundários ou produtos naturais são compostos que possuem baixo peso molecular e são produzidos em resposta às condições ambientais (VIEIRA, 2008). De acordo com Bérdy (2005) são compostos diversificados e com uma bioquímica única, o que faz com que apresentem potencial aplicação como antibióticos, antimicrobianos, antioxidantes, antivirais, antitumorais, antimalárico, inseticida e como agentes de controle biológico e biorremediadores.

A plasticidade fenotípica dos fungos endofíticos é favorecida em biótopos como florestas chuvosas de regiões tropicais, pois nesses locais existem não somente a diversidade biológica, mas também de substâncias químicas (AZEVEDO et al., 2000; HAWKSWORTH, 2001; STROBEL et al., 2004). Portanto, os metabólitos secundários de fungos endofíticos podem sofrer alterações quando cultivados em laboratório (STONE, 2000; STROBEL et al., 2004). Fatores tais como a temperatura, composição do meio de cultura e aeração, também são interferentes na quantidade e no tipo de compostos que serão produzidos por estes microrganismos (STONE, 2000; STROBEL et al., 2004). Como na natureza existem algumas plantas que contêm microrganismos que mimetizam a química de sua planta hospedeira, fazendo com que sejam capazes de produzir o mesmo produto final da planta, acredita-se que o fato de os endófitos de fungos produzirem metabólitos típicos de seu hospedeiro deve-se a uma recombinação genética entre o fungo e a planta (STROBEL, 2003). Logo, áreas tropicais, favorecem em condições ambientais às plantas, contribuindo para uma maior diversidade fúngica (TAN & ZOU, 2001; HAWKSWORTH, 2001).

Alguns microrganismos endofíticos podem realizar hibridização com suas plantas hospedeiras, o que proporciona um aumento da biodiversidade genética, e conseqüentemente, a formação de novos compostos bioativos. Os metabólitos secundários que já foram isolados de extratos de fungos endofíticos de diversas plantas pertencem a diversos grupos estruturais, sendo que os principais são: esteroides, xantonas, fenóis, isocumarinas, derivados de perilenos, quinonas, furandionas, terpenóides, depsopeptídeos e citocalasinas (SCHULZ & BOYLE, 2005).

Os fungos endofíticos apresentam uma diversidade de efeitos biológicos, sendo alguns deles antibióticos, antimicrobianos, antioxidantes, antitumorais, antivirais (SILVA et al., 2018; DA SILVA et al., 2017; SAVIDOV et al., 2018),

imunossupressores (PURI et al., 2018), antiprotozoários, antimaláricos e também antidepressivos (DA SILVA et al., 2017). Portanto, há grande potencial para que alguns metabólitos secundários produzidos por estes microrganismos possam ser úteis para o tratamento de vários transtornos de saúde humana (DA SILVA et al., 2017), incluindo nos sintomas relacionados à depressão.

2.5 *Paullinia cupana*

A *Paullinia cupana*, popularmente conhecida como guaraná, é uma espécie vegetal da Amazônia brasileira. Possui um grande interesse comercial devido à alta concentração de cafeína presente em suas sementes (SCHIMPL et al., 2013). Os extratos da *Paullinia cupana* apresentam atividades antitumoral (FUKUMASU et al., 2011, 2008), anticanceriogênica, evita a formação de placa dentária o (YAMAGUTI-SASAKI et al., 2007), e produz efeito ansiolítico em roedores e efeito de proteção contra distúrbios metabólicos humanos (COSTA KREWER et al., 2011).

O Brasil é o único produtor em escala comercial da *Paullinia cupana* (BENTES e COSTA NETO, 2011), produzindo 2.761 toneladas de sementes em uma área de 10.097ha distribuídos nos estados do Amazonas, Acre, Pará, Rondônia, Roraima, Bahia e Mato Grosso, possuindo um rendimento médio de 274 Kg/ha (IBGE, 2019). Cerca de 70% da produção nacional é destinada a indústria de bebidas, os 30% restante são comercializados em forma de xarope, bastão, pó, extrato e outros (BENTES E COSTA NETO, 2011).

As ações farmacológicas da *Paullinia cupana* têm sido alvo de grande interesse na indústria farmacêutica e em laboratórios de pesquisa. Já que suas sementes possuem altas concentrações de xantinas (3% a 6%), em que incluem a 1,3-cafeína (trimetilxantina) e vestígios de teofilina e teobromina, bem como altas concentrações de polifenóis ou saponinas (7%), que incluem catequinas, epicatequinas e outros (HENMAN, 1982; BENOWITZ, 1990).

Os extratos de sementes e raízes do guaraná são muito utilizados como estimulante do sistema nervoso central, devido a grande concentração de cafeína (BENOWITZ, 1990). O extrato também é usado como anorexígeno, reduzindo ingestão de alimento e como nootrópico, pois produz melhora na capacidade cognitiva e na memória (OLIVEIRA et al., 2005; O'DEA, 2003; HENMAN, 1982). Há diferentes estudos pré-clínicos e clínicos que já confirmaram que o uso popular do

extrato de semente de guaraná desempenha um efeito para melhorar a memória (MATTEI et al., 1998; KENNEDY et al., 2004).

Hoje em dia, as sementes apresentam uma tendência não apenas global na indústria de refrigerantes e energéticos (RENFREW, 2016), mas também apresentam promissoras propriedades como matéria-prima para o desenvolvimento de medicamentos e suplementos com diversas finalidades e propriedades. Algumas dessas propriedades são antifadiga (SETTE et. al, 2017; DEL GIGLIO, 2014), antioxidante (DALONSO & PTKOWICZ, 2012; ZEIDÁN-CHULIÁ et al., 2013; BITTENCOURT et al., 2012), antimicrobiano (YAMAGUTI-SASAKI et al., 2007; BASILE et al., 2013; MARTINS et al., 2014), antiproliferativo (FUKUMASU et al., 2011), ansiolítico (RONCON et.al., 2011) e cardioprotetor (BYDLOWSKI et al., 1988, 1991).

O guaraná apresenta fungos endofíticos em diversas partes da planta, e existem relatos na literatura do isolamento destes microrganismos em folhas, sementes e raízes (LIOTTI, R. G., et al, 2018; SILVA et al., 2018; BOGAS et al., 2015; DE FREITAS et al., 2013; BONATELLI et al., 2016). Os extratos obtidos a partir da cultura destes microrganismos já foram associados a ações biológicas como antibacteriana e antitumoral (SILVA et al., 2018). Além disso, nos últimos anos tem sido levantada a hipótese de que alguns dos efeitos biológicos atribuídos ao Guaraná possam na verdade estar relacionados aos metabólitos produzidos por seus microrganismos endofíticos.

3 Objetivos

3.1 Objetivo Geral

O principal objetivo deste trabalho foi investigar os extratos obtidos dos fungos endofíticos isolados das raízes e sementes do guaraná produzem efeitos sobre a atividade da monoaminoxidase (MAO) cerebral *in vitro* e induzem ações comportamentais do tipo antidepressivas em camundongos Swiss.

3.2 Objetivos específicos

Os objetivos específicos deste trabalho de conclusão de curso estiveram focados em:

- a) estudar o efeito dos extratos de *Fusarium solani* (cepa 41BDA), *Gibberella zeae* (cepa 5S), *Glomerella acutata* (cepa 15S), *Mycoleptodiscus terrestris* (cepa 30TSA) e *Phomopsis asparagi* (cepa 38TSA) sobre a atividade da MAO total;
- b) investigar o efeito de *F. solani*, *G. acutata*, *M. terrestris* e *P. asparagi* sobre a atividade das isoformas cerebrais A e B da MAO *in vitro*;
- c) analisar se o tratamento agudo de camundongos com os extratos de *F. solani*, *G. acutata*, *M. terrestris* e *P. asparagi* produz ação do tipo antidepressiva;
- d) investigar se o tratamento agudo de camundongos com os extratos de *F. solani*, *G. acutata*, *M. terrestris* e *P. asparagi* altera as atividades locomotora e exploratória.

4 Materiais e Métodos

4.1 Cultivo dos fungos e Preparação dos Extratos

As espécies endofíticas utilizadas neste trabalho (Tabela 1) foram obtidas do banco de microrganismos do Laboratório de Biotecnologia e Ecologia de Microrganismos da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT) e caracterizados e identificados de acordo com Silva et al (2018). Os fungos foram cultivados em meio BDA (ágar de batata) durante 15 dias a 28°C. O micélio foi homogeneizado em acetato de etila (na proporção 1:1), permanecendo sob agitação durante 24 horas, seguido por imersão em banho ultrassônico por mais 1 hora. O extrato foi então concentrado em rotaevaporador (38°C, 90 rpm) (ROSA et al, 2012).

Tabela 1. Fungos endofíticos isolados das sementes e raízes da *Paullinia cupana* usados no preparo dos extratos estudados.

Espécie – cepa	Tecido Vegetal	Origem	Número de acesso do GenBank
<i>Fusarium solani</i> – 41BDA	Raiz	Maués	KU512702
<i>Gibberella zeae</i> – 3S	Semente	Manaus	KU512707
<i>Glomerella acutata</i> – 15S	Semente	Maués	KU512706
<i>Mycoleptodiscus terrestris</i> – 30TSA	Raiz	Maués	KU512712
<i>Phomopsis asparagi</i> – 38TSA	Raiz	Manaus	KU512694

4.2 Animais

Foram usados camundongos Swiss machos pesando entre 20 e 30 gramas, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT). Os animais foram mantidos em caixas separadas e em um ambiente com temperatura controlada de 22 ± 2 °C e mantidos em um ciclo de 12 horas luz/12 horas escuro, com acesso livre a água e comida. A dieta dos animais foi constituída de ração comercial (Labina, SP) e água fresca à vontade. Os experimentos foram realizados de acordo com as normas do Comitê de Ética e Bem-Estar Animal da UFMT (processo 23108.030578/13-7).

4.3 Atividade da monoaminoxidase (MAO) cerebral *in vitro*

4.3.1 Preparação da Membrana (Fração P2)

Para a preparação da membrana (fração P2 rica em mitocôndria) os camundongos foram mortos por deslocamento cervical, os cérebros foram rapidamente removidos, lavados com tampão de homogeneização gelado (Na_2HPO_4 0,0168 M, KH_2PO_4 0,0106 M, sacarose 0,32 M, a pH 7,4) e levados ao gelo. O cérebro foi então homogeneizado sem bulbo e sem cerebelo com tampão de homogeneização gelado na proporção de 1:4 e centrifugado a 900 g por 5 minutos a 4 °C. 1 mL do sobrenadante foi retirado e centrifugado a 12500 g por 15 min a uma temperatura de 4 °C. O sobrenadante foi então retirado e o pellet final ressuspensão em 1 mL de tampão de ensaio (Na_2HPO_4 0,0168 M, KH_2PO_4 0,0106 M, 0,0036 M KCl, a pH 7,4) (DUARTE-ALMEIDA et al., 2006).

A dosagem de proteína foi realizada na fração P2 no dia do ensaio seguindo o método de Bradford, não ultrapassando 1,5 mg/mL.

4.3.2 Investigação da capacidade da inibição da enzima MAO

Para investigar a capacidade de inibição da enzima MAO foram preparadas soluções de extrato dos fungos *Fusarium solani* (cepa 41BDA), *Gibberella zeae* (cepa 5S), *Glomerella acutata* (cepa 15S), *Mycoleptodiscus terrestris* (cepa 30TSA) e *Phomopsis asparagi* (cepa 38TSA) na concentração final de 100 µg/mL para a avaliação inibitória total da MAO (MAO-T). Para o estudo das isoformas (MAO-A e MAO-B), o ensaio enzimático ocorreu em presença dos extratos de *Fusarium solani* (cepa 41BDA), *Glomerella acutata* (cepa 15S), *Mycoleptodiscus terrestris* (cepa 30TSA) e *Phomopsis asparagi* (cepa 38TSA) nas concentrações finais de 20 µg/mL, 100 µg/mL e 500 µg/mL.

Não se utilizou inibidores para a avaliação da inibição da MAO-T. Nos ensaios para MAO-A, incubou-se a mistura reacional em presença de pargilina (concentração final de 250 nM), um inibidor enzimático da MAO-B. Para o ensaio de atividade da MAO-B, realizou-se a incubação em presença de clorgilina (concentração final: 250 nM), um inibidor da isoforma A.

A fração P2 foi pré-incubada, juntamente com tampão de ensaio, extratos fúngicos e pargilina ou clorgilina (no ensaio das isoformas), a 37 °C por 5 min. A quinuramina (concentração final: 90 nM), o substrato enzimático, foi adicionada a

solução e incubada por mais 30 min. Em seguida a reação foi interrompida com 300 µL de ácido tricloroacético 10% e centrifugada a 16000 g por 5 min a 4 °C. 800 µL de sobrenadante foi retirado e a ele foi adicionado 1 mL de hidróxido de sódio (NaOH) 1,0 M. A fluorescência foi medida com excitação a 315 nm e emissão a 380 Nm.

Para a quantificação dos resultados e determinação da atividade enzimática, construiu-se uma curva padrão a partir de uma solução de 4-hidroxiquinolina a 100 nM, em concentrações que variam de 0,1 a 5 nM. Os resultados foram expressos em ηmol de 4-hidroxiquinolina formada por miligrama de proteína por minuto.

Levando em consideração que alguns dos componentes dos extratos de fungos podem apresentar fluorescência, foi realizado um preparo de branco para cada extrato, onde os valores obtidos foram descartados das leituras fluorimétricas.

4.4 Testes comportamentais

Para o estudo da ação do tipo antidepressiva dos extratos fúngicos, os animais foram tratados e distribuídos aleatoriamente em grupos veículo/controle e extrato, cada grupo composto por 6 a 8 indivíduos. Os camundongos do grupo controle receberam apenas água por via intragástrica (i.g.), o grupo extrato recebeu a dose de extrato de 300 mg/Kg, diluído em água, pela via intragástrica (i.g.) a um volume constante de 10 mL/Kg de peso corporal, 1 hora antes dos testes da suspensão da cauda, nado forçado e campo aberto. Para cada teste comportamental, um grupo diferente de animais foi utilizado.

4.4.1 Teste de Suspensão da Cauda (TSC)

O teste de suspensão de cauda (TSC) foi realizado de acordo com o descrito por Steru et al. (1985), onde o camundongo foi suspenso a cerca de 50 cm do chão por uma fita adesiva fixada a 1 cm antes da ponta da cauda. Durante um período de 6 minutos observou-se os parâmetros de latência para o primeiro episódio de imobilidade e o tempo total de imobilidade. O camundongo foi considerado imóvel quando realizava apenas movimentos respiratórios.

4.4.2 Teste do Nado Forçado (TNF)

O teste do nado forçado (TNF) foi realizado de acordo com o método descrito por Porsolt et al. (1977), no qual o camundongo foi colocado em um cilindro com dimensões de 35 cm de altura x 10,5 cm de diâmetro, contendo cerca de 28 cm de altura de água mantida à uma temperatura de 25 ± 2 °C. Durante um período de 6 minutos observou-se os parâmetros de latência para o primeiro episódio de imobilidade e o tempo total de imobilidade. O camundongo foi considerado imóvel quando fez apenas movimentos necessários para manter a cabeça acima do nível da água.

4.4.3 Teste do Campo Aberto (TCA)

O Teste do Campo Aberto (TCA) foi realizado em uma caixa confeccionada em madeira com dimensões de 45 cm de altura x 45 cm de largura x 45 cm de profundidade, com o piso dividido em 16 quadrantes de dimensões iguais. O animal foi então colocado no centro da caixa e durante um período de 5 minutos observou-se os parâmetros de “*crossing*” (número de cruzamentos) e de “*rearing*” (número de vezes que o animal se levanta sob as patas traseiras) (WALSH e CUMMINS, 1976).

4.5 Análises Estatísticas

A normalidade dos dados foi verificada pelo teste de D’Agostino e Pearson. Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média (E.P.M). Os resultados da atividade da MAO *in vitro* foram analisados por Análise de Variância (ANOVA) de uma via seguida pelo teste post-hoc de Tukey. Para os testes comportamentais, os resultados foram analisados pelo teste *t* de student para comparação dos grupos veículo e extratos. Foram considerados significativos os valores de $P < 0,05$. As análises estatísticas e a plotagem dos gráficos foram realizadas pelo uso do Software GraphPad Prisma® Versão 5.

5 Resultados e Discussões

Este trabalho dedicou-se ao estudo do efeito de cinco fungos endofíticos isolados de sementes e raízes do guaraná sobre a atividade da enzima monoaminoxidase cerebral e suas isoformas *in vitro*, além de sua possível ação do tipo antidepressiva em camundongos.

A investigação dos extratos frente a atividade da MAO total foi utilizada como ponto de partida para o estudo das suas isoformas. Os dados obtidos para os extratos de *F. solani*, *G. acutata*, *G. zaeae*, *M. terrestris* e *P. asparagi* sobre a atividade total da MAO cerebral *in vitro* estão demonstrados na Tabela 2. Nossos resultados demonstraram que, com exceção do extrato de *G. zaeae*, os demais extratos analisados reduziram a atividade da MAO total na concentração de 100 µg/mL, mas com diferentes graus de inibição (Tabela 2). Portanto, o extrato de *G. zaeae* não foi avaliado no estudo das isoformas enzimáticas MAO-A e MAO-B, sendo apenas *F. solani*, *G. acutata*, *M. terrestris* e *P. asparagi* selecionados para a continuação do estudo *in vitro*, cujos resultados estão apresentados nas Tabelas 3 e 4, e descritos abaixo.

Tabela 2. Efeito dos extratos de fungos endofíticos sobre a atividade da monoaminoxidase (MAO) total em cérebro de camundongos *in vitro* (ηmol de 4-hidroxiquinolina/mg de proteína . min⁻¹).

Os valores estão expressos como média ± S.E.M (erro padrão da média) de 3 experimentos realizados em triplicata. Os asteriscos representam o nível de significância em comparação ao grupo controle/veículo: *P<0.05, ** P<0.01 e *** P<0.001

Extrato	Veículo	100 µg/mL	% de inibição
<i>F. solani</i>	2.99 ± 0.01	2.32 ± 0.12***	22,4
<i>G. zaeae</i>	2.46 ± 0.09	2.35 ± 0.09	4,5
<i>G. acutata</i>	2.99 ± 0.10	2.00 ± 0.12***	33,1
<i>M. terrestris</i>	2.99 ± 0.02	2.12 ± 0.10**	29,1
<i>P. asparagi</i>	2.98 ± 0.01	1.86 ± 0.11***	37,6

(ANOVA de uma via seguida pelo teste *post-hoc* de Tukey).

A análise estatística dos dados demonstrou que o extrato de *F. solani* reduziu a atividade cerebral da MAO total *in vitro* em cerca de 22,4% na concentração de 100 µg/mL (Tabela 2). Com relação a seu efeito sobre as isoformas cerebrais, nossos resultados demonstraram que o extrato de *F. solani* inibiu a atividade da MAO-A somente na maior concentração avaliada (500 µg/mL; 37,8% de inibição)

(Tabela 3). Por sua vez, a atividade da MAO-B foi inibida significativamente a partir de 100 µg/mL (25,4%) (Tabela 4).

Para o extrato de *G. acutata* a análise estatística dos dados mostrou uma redução cerca de 33,1% na atividade cerebral da MAO total *in vitro* na concentração de 100 µg/mL (Tabela 2). No estudo das isoformas cerebrais, demonstrou-se que não houve uma redução significativa na atividade da MAO-A em nenhuma das concentrações analisadas; já a atividade da MAO-B foi inibida significativamente a partir de 20 µg/mL (24,7%) (Tabela 4). Para a MAO-B, o extrato de *G. acutata* foi adicionalmente avaliado em uma concentração mais baixa, 1 µg/mL, onde não foi observada inibição significativa desta isoenzima.

O extrato de *M. terrestris* apresentou, em uma concentração 100 µg/mL, inibição de 29% da atividade da MAO total *in vitro* (Tabela 2). Para as isoformas cerebrais MAO-A e MAO-B, a inibição ocorreu apenas na maior concentração testada (500 µg/mL), sendo 37,3% (Tabela 3) e 46,9% (Tabela 4), respectivamente.

A incubação do isolado de mitocôndria em presença do extrato de *P. asparagi* *in vitro* levou uma redução de 37,6% na atividade cerebral da MAO total na concentração de 100 µg/mL (Tabela 2). Com relação a seu efeito inibitório sobre a atividade das isoformas, apenas a maior concentração testada (500 µg/mL) teve efeito significativo sobre a MAO-A (41,6% de inibição) (Tabela 3), enquanto a atividade da MAO-B foi inibida significativamente a partir de 100 µg/mL (22,6%) (Tabela 4). Interessantemente, nossos resultados demonstraram que o extrato de *P. asparagi* contribuiu significativamente para o aumento da atividade da MAO-A nas concentrações de 20 µg/mL e 100 µg/mL.

Em conjunto, estes resultados apontam que os fungos endofíticos avaliados neste trabalho afetam significativamente a atividade de ambas as isoformas da MAO. A MAO é uma enzima de catálise oxidativa de deaminação de uma grande variedade de substratos, incluindo neurotransmissores como a NA, 5-HT e DA. Anormalidades na atividade da MAO já que foram encontradas em alguns transtornos psiquiátricos, como agorafobia e ansiedade, levando a utilização de IMAOs como fármacos antidepressivos desde 1950 (TYRER, 1979). A origem dos antidepressivos inibidores da MAO teve início da década de 1950, ao notar-se que a iproniazida, usada no tratamento de tuberculose, era capaz de deixar os pacientes eufóricos e com humor elevado, descobrindo-se que a droga possuía uma ação sobre as monoaminas cerebrais. Depois de estudos iniciais feitos por

Crane e Kline, em 1956 e 1958, respectivamente, a iproniazida foi introduzida no tratamento de pacientes com depressão (SCAVONE e GORENSTEIN, 1996; SNYDER, 1996). Os IMAOs, embora muito eficazes, apresentam efeitos colaterais indesejáveis, principalmente em função de sua inespecificidade de ação farmacológica, e em casos de superdosagens podem ser letais (KESSEL e SIMPSON, 1995). Um dos efeitos colaterais mais associados aos IMAOS é a ocorrência de crises hipertensivas e hiperpiréticas (MORENO, et al., 1999). Quanto ao mecanismo de ação, os IMAOs podem ser classificados em a) não seletivos e irreversíveis, que se ligam de forma irreversível às MAOs, como iproniazida, isocarboxazida, tranilcipromina e fenelzina; b) seletivos e irreversíveis, como a clorgilina, inibidora da MAO-A; e c) seletivos e reversíveis como brofaromina, maclobemida, toloxatona e befloxatona. Estes últimos têm sido explorados nos últimos anos, compondo a classe de novos antidepressivos, denominados multimodais. A moclobemida é um antidepressivo inibidor seletivo e reversível da MAO-A, indicada em casos de depressão refratária e no tratamento de algumas fobias (GOODMAN e GILMAN, 2012). Por outro lado, a selegilina é um inibidor seletivo irreversível da MAO-B, mas não possui ação antidepressiva significativa, apesar de ter efeito farmacológico potencial (HIMMELHOCH, 1995; GOODMAN e GILMAN, 2012).

Os extratos avaliados neste trabalho parecem inibir principalmente o subtipo B da MAO em concentrações consideradas baixas (em torno de 100 µg/mL). A MAO-B tem associação principalmente com a deficiência de dopamina no cérebro (BOOYSEN, et al., 2011). Dos estudos recentes envolvendo as isoformas da MAO, grande parte foca em doenças neurodegenerativas, uma vez que inibidores seletivos da MAO-B (selegilina e rasagilina (irreversíveis) e isatina (reversível) são indicados no tratamento da Doença de Parkinson, apesar de serem menos efetivos que a terapia clássica com levodopa (GOODMAN e GILMAN, 2012; FOLLMER e BEZERRA NETTO, 2013). A selegilina apresenta seletividade com relação a MAO-B cerca de 250 vezes maior que para MAO-A. Estudos recentes mostram que a menadiona (vitamina K3) é um inibidor reversível com seletividade para MAO-B 60 vezes maior que para MAO-A (COELHO-CERQUEIRA, et al., 2011). Neste trabalho, apesar de não realizarmos o estudo de reversibilidade da atividade enzimática, o extrato de *G. acutata* destacou-se por, aparentemente, inibir a atividade da MAO-B de forma seletiva. A cepa 15S, isolada da semente do

guaraná, causou uma inibição da isoforma B a partir da concentração de 20 µg/mL, sem efeitos *in vitro* sobre a atividade da isoforma A, até mesmo nas maiores concentrações.

Tabela 3. Efeito dos extratos de fungos endofíticos sobre a atividade da isoforma A da monoaminoxidase (MAO-A) em cérebro de camundongos *in vitro* (nmol de 4-hidroxiquinolina/mg de proteína . min⁻¹).

Extrato	Veículo	20 µg/mL	100 µg/mL	500 µg/mL
<i>F. solani</i>	0.37 ± 0.004	0.37 ± 0.011	0.38 ± 0.010	0.23 ± 0.028*
<i>G. acutata</i>	0.27 ± 0.003	0.29 ± 0.011	0.28 ± 0.004	0.29 ± 0.026
<i>M. terrestris</i>	0.29 ± 0.004	0.27 ± 0.021	0.29 ± 0.032	0.18 ± 0.016**
<i>P. asparagi</i>	0.24 ± 0.008	0.40 ± 0.052*	0.41 ± 0.056*	0.14 ± 0.029*

Os valores estão expressos com média ± S.E.M (erro padrão da média) de 3 experimentos realizados em triplicata. Os asteriscos representam o nível de significância em comparação ao grupo controle/veículo: *P<0.05, ** P<0.01 e *** P<0.001 (ANOVA de uma via seguida pelo teste post-hoc de Tukey).

Tabela 4. Efeito dos extratos de fungos endofíticos sobre a atividade da isoforma B da monoaminoxidase (MAO-B) em cérebro de camundongos *in vitro* (nmol de 4-hidroxiquinolina/mg de proteína . min⁻¹).

Extrato	Veículo	20 µg/mL	100 µg/mL	500 µg/mL
<i>F. solani</i>	1.22 ± 0.049	1.26 ± 0.019	0.91 ± 0.049*	0.50 ± 0.096***
<i>G. acutata</i> ®	1.78 ± 0.009	1.34 ± 0.082*	0.96 ± 0.106***	0.24 ± 0.137***
<i>M. terrestris</i>	1.13 ± 0.054	1.11 ± 0.045	1.02 ± 0.040	0.60 ± 0.064**
<i>P. asparagi</i>	1.28 ± 0.037	1.17 ± 0.058	0.99 ± 0.068*	0.72 ± 0.042***

Os valores estão expressos com média ± S.E.M (erro padrão da média) de 3 experimentos realizados em triplicata. Os asteriscos representam o nível de significância em comparação ao grupo controle/veículo: *P<0.05, ** P<0.01 e *** P<0.001 (ANOVA de uma via seguida pelo teste post-hoc de Tukey). @ O extrato de *Glomerella acutata* também foi testado na concentração de 1 µg/mL: 1.64 ± 0.049.

Cabe destacar também o efeito apresentado pelo extrato de *P. asparagi*, que aumentou a atividade da isoforma A em concentrações consideradas baixas. A modulação de enzimas reguladoras de processos metabólicos chave é responsável pela ativação ou inibição de reações químicas específicas para cada situação, resultando em respostas biológicas adequadas (MARZZOCO & TORRES, 2015;

VOET et al., 2002). Existem dois tipos de regulação enzimáticas, uma intracelular e uma extracelular. A intracelular é comandada pelos moduladores alostéricos enzimáticos que podem ser negativos ou positivos (MARZZOCO & TORRES, 2015; HAMMES, 2002). Muitas das enzimas celulares são alostéricas e possuem um sítio de ligação alostérico, a qual moduladores ligados a ele exercem influência sobre a atividade enzimática, a qual pode ser aumentada ou diminuída. Quando a ligação do modulador promove aumento da atividade enzimática, ele é chamado de modulador alostérico positivo (MARZZOCO & TORRES, 2015; EVANS, 1991; LIM, 2002). No entanto, o mecanismo pelo qual uma substância pode atuar como ativador ou modulador positivo da MAO ainda não é bem entendido. De forma particular, não encontramos na literatura qualquer outro relato sobre substâncias que atuem aumentando a atividade de suas isoformas. Apesar de necessitar de confirmação por estudos adicionais, além de análises enzimáticas *ex vivo*, este trabalho demonstra, pela primeira vez, o aumento na atividade enzimática da MAO-A induzida por um extrato de fungo endofítico.

Considerando que a inibição da atividade da MAO pode constituir um mecanismo de ação para drogas que amenizem os sintomas relacionados a doenças neuropsiquiátricas, a ação do tipo antidepressiva dos extratos de *F. solani*, *G. acutata*, *M. terrestris* e *P. asparagi* foi investigada em testes comportamentais em camundongos. Os resultados obtidos estão demonstrados nas figuras 1, 2, 3 e 4.

A análise estatística demonstrou que o tratamento agudo dos animais com o extrato de *F. solani* reduziu significativamente o tempo total de imobilidade (18,8%, Figura 1A) e aumentou a latência para o primeiro episódio de imobilidade (60%, Figura 1B) no teste da suspensão da cauda, em comparação ao grupo controle. De modo similar, quando os animais foram observados no teste do nado forçado, o extrato induziu uma redução de 36,8% no tempo total de imobilidade (Figura 1C) e aumento de 63,1% na latência para o primeiro episódio de imobilidade (Figura 1D).

O tratamento agudo dos animais com o extrato de *G. acutata* reduziu significativamente o tempo total de imobilidade (30%, Figura 2A) e aumentou a latência para o primeiro episódio de imobilidade (96,1%, Figura 2B) no teste da suspensão da cauda, quando comparados aos animais tratados apenas com o veículo. Por outro lado, apesar de não alterar a latência para o primeiro episódio de

imobilidade (Figura 2D), quando os animais foram observados no teste do nado forçado, o extrato induziu uma redução de 25,7% no tempo total de imobilidade (Figura 2C).

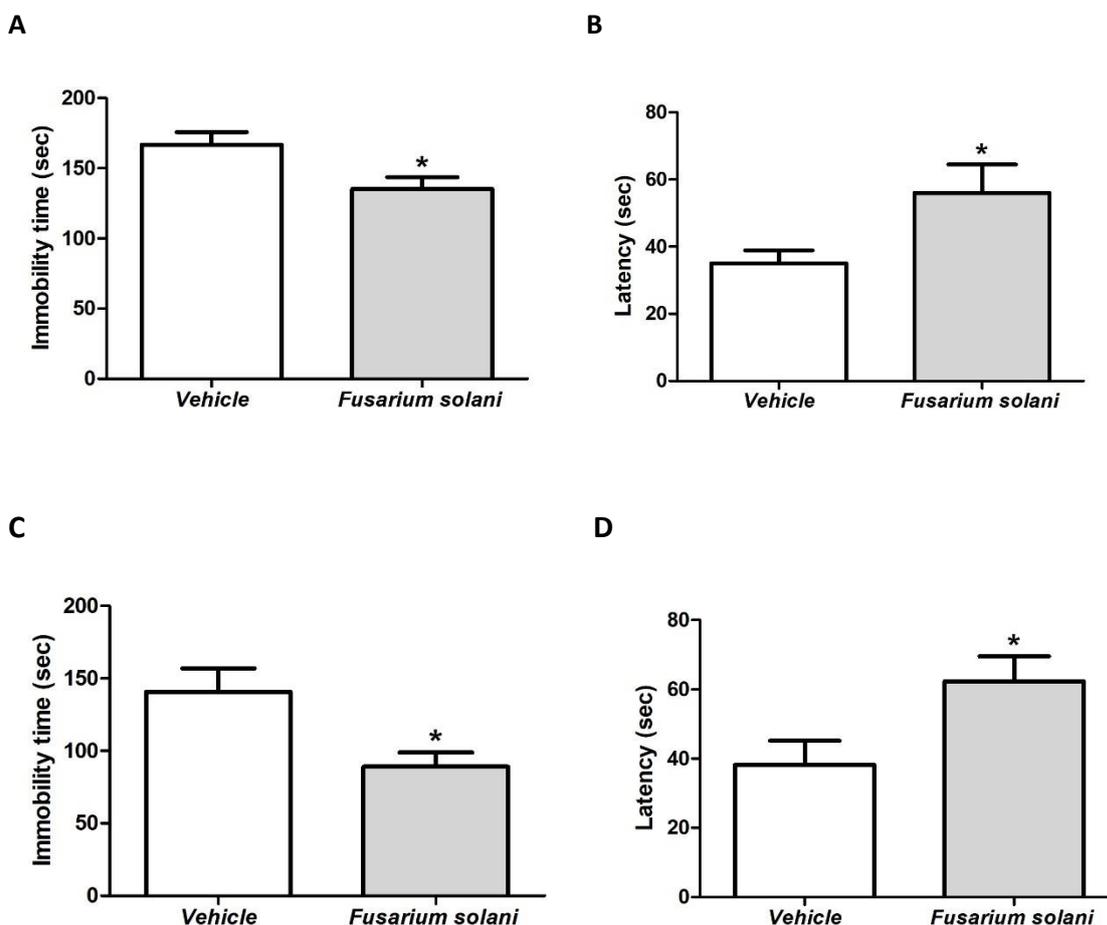


Figura 1. Efeito da administração do extrato de *Fusarium solani* (cepa 41BDA) sobre o tempo total de imobilidade e a latência para o primeiro episódio de imobilidade no teste da suspensão da cauda (A e B, respectivamente) e no teste do nado forçado (C e D) em camundongos. Os animais receberam o extrato na dose de 300 mg/kg, administrado pela via intragástrica (i.g.), uma hora antes dos testes. Cada coluna representa a média \pm S.E.M. (erro padrão da média) de 6-8 animais. Os asteriscos indicam o nível de significância em comparação ao grupo controle tratado com veículo (teste *t* de student) (*) $P < 0,05$ e (**) $P < 0,01$.

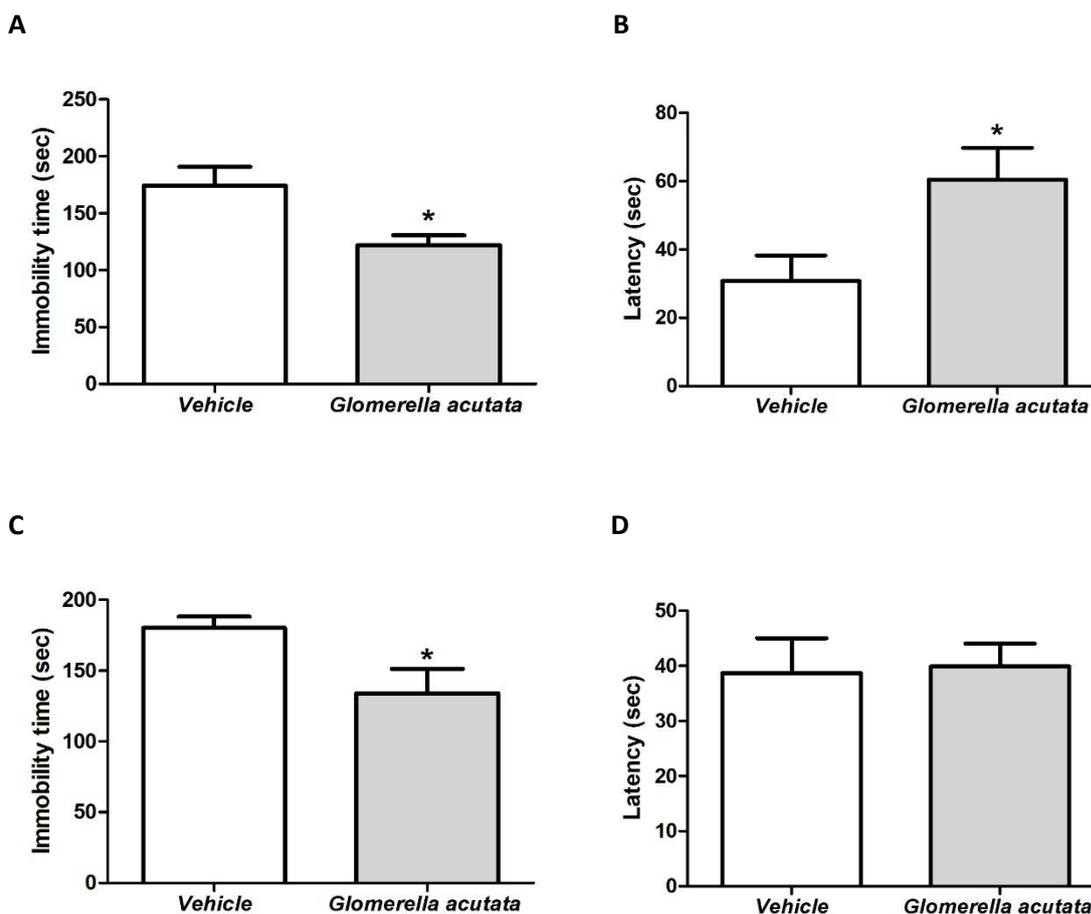


Figura 2. Efeito da administração do extrato de *Glomerella acutata* (cepa 15S) sobre o tempo total de imobilidade e a latência para o primeiro episódio de imobilidade no teste da suspensão da cauda (A e B, respectivamente) e no teste do nado forçado (C e D) em camundongos. Os animais receberam o extrato na dose de 300 mg/kg, administrado pela via intragástrica (i.g.), uma hora antes dos testes. Cada coluna representa a média \pm S.E.M. (erro padrão da média) de 6-8 animais. Os asteriscos indicam o nível de significância em comparação ao grupo controle tratado com veículo (teste *t* de student) (*) $P < 0,05$.

A administração do extrato de *M. terrestris* induziu uma redução no tempo total de imobilidade tanto no TSC (35%, Figura 3A) como no TNF (28,8%, Figura 3C). Um aumento na latência após o tratamento agudo com *M. terrestris* foi observado no TSC (106%, Figura 3B), porém não no TNF (Figura 3D).

Na dose e via de administração avaliadas neste trabalho, o tratamento dos animais com o extrato de *P. asparagi* não induziu alterações comportamentais nos TSC e TNF em comparação ao grupo tratado somente com o veículo (Figura 4).

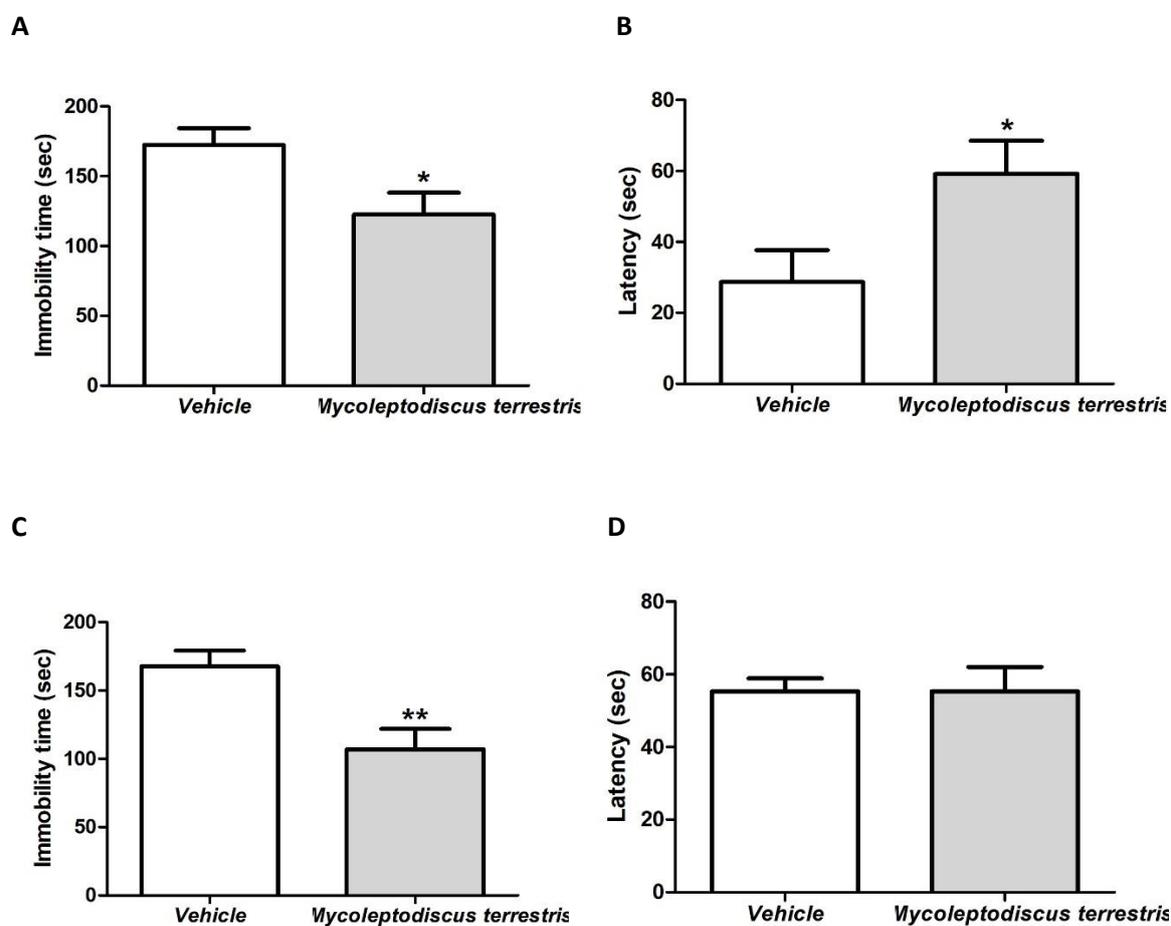


Figura 3. Efeito da administração do extrato de *Mycoleptodiscus terrestris* (cepa 30TSA) sobre o tempo total de imobilidade e a latência para o primeiro episódio de imobilidade no teste da suspensão da cauda (A e B, respectivamente) e no teste do nado forçado (C e D) em camundongos. Os animais receberam o extrato na dose de 300 mg/kg, administrado pela via intragástrica (i.g.), uma hora antes dos testes. Cada coluna representa a média \pm S.E.M. (erro padrão da média) de 6-8 animais. Os asteriscos indicam o nível de significância em comparação ao grupo controle tratado com veículo (teste *t* de student) (*) $P < 0,05$.

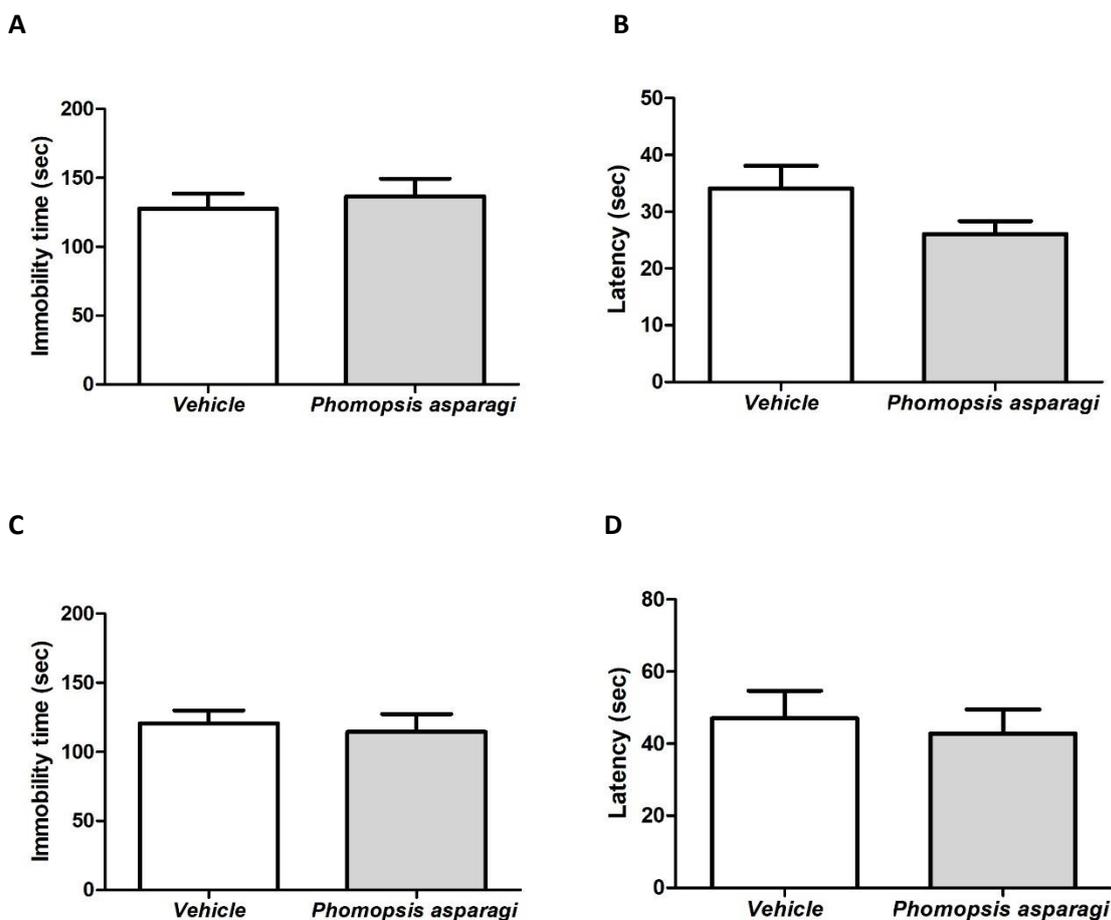


Figura 4. Efeito da administração do extrato de *Phomopsis asparagi* (cepa 38TSA) sobre o tempo total de imobilidade e a latência para o primeiro episódio de imobilidade no teste da suspensão da cauda (A e B, respectivamente) e no teste do nado forçado (C e D) em camundongos. Os animais receberam o extrato na dose de 300 mg/kg, administrado pela via intragástrica (i.g.), uma hora antes dos testes. Cada coluna representa a média \pm S.E.M. (erro padrão da média) de 6-8 animais.

É importante ressaltar que um efeito psicoestimulantes, caracterizado pelo aumento da atividade locomotora e exploratória, pode dificultar a interpretação dos resultados observados em ambos os TSC e TNF. Em situações em que os tratamentos induzam efeitos psicoestimulantes, a redução no tempo de imobilidade nos testes comportamentais deve ser analisada com cuidado, uma vez que pode indicar um mero efeito estimulante, e não uma ação antidepressiva. Por exemplo, a cafeína reduz o tempo de imobilidade em ambos os TSC e TSC em camundongos, mas não possui efeito do tipo antidepressivo (KILLINGER, 2012). Por outro lado, o antidepressivo paroxetina, comumente utilizado clinicamente no tratamento da depressão, reduz o tempo de imobilidade nos TSC e TNF em camundongos nas mesmas doses em que induz aumento na atividade locomotora

dos animais (GAY et al., 2010); nestes casos, a ação antidepressiva deve ser confirmada por testes adicionais, que não estão sujeitos a interferências de alterações locomotoras. Por este motivo, quando TSC e TNF são realizados, é imperativo que a avaliação da locomoção e exploração seja realizada.

Neste trabalho, a observação dos animais no teste do campo aberto (TCA) demonstrou que, com exceção dos camundongos tratados com o extrato de *G. acutata*, os parâmetros locomotores e exploratórios não foram alterados (Tabela 5). O tratamento agudo dos animais tratados com *G. acutata* induziu um aumento significativo tanto no número de cruzamentos (32,3 %) como no número de elevações (69,7%). Apesar de não descartar a ação do tipo antidepressiva deste extrato fúngico, este dado deve ser observado com cautela, uma vez que é provável que uma ação psicoestimulante seja induzida pela *G. acutata*.

A dopamina, em humanos é oxidada pela MAO-B (GLOVER, 1977) enquanto em roedores a DA é oxidada pela MAO-A (JOHNSTON, 1968; YANG & NEFF, 1974). A MAO-B está associada a prevenção de processos neurodegenerativos, tais como a doença de Alzheimer e Parkinson (STAHL, 2000). Os inibidores seletivos da MAO-B permitem o aumento nos níveis de dopamina, bem como diminuição dos danos decorrentes do processo oxidativo da mesma. Potencializadores da inibição da MAO-B fazem com que haja uma elevação da DA disponível na fenda sináptica. Uma das consequências desse aumento é a ativação da via mesolímbica, responsável pela recompensa (o aumento de DA sinaliza ao SNC que ocorreu algo considerado bom) e disfunções nestas vias estão ligadas a alterações que envolvem dependência e esquizofrenia (SCHULTZ et al., 1997; SCHULTZ, 2016). O aumento de dopamina liberada também é responsável por efeitos comportamentais e motores, como o aumento da atividade locomotora (MOREIRA et al., 2015). A DA desempenha um papel importante no vício, especialmente para psicoestimulantes, já que drogas como cocaína, anfetamina, morfina, nicotina e álcool são capazes de amplificar os níveis de DA (WISE, 1984; IMPERATO et al., 1986; WISE & BOZARTH, 1987; DI CHIARA & IMPERATO, 1988).

Tabela 5. Efeito do tratamento agudo com o extrato de fungos endófitos sobre as atividades locomotora e exploratória de camundongos no teste do campo aberto (TCA).

Extrato	Cruzamentos		Elevações	
	Veículo	300 mg/kg	Veículo	300 mg/kg
<i>F. solani</i>	104.30 ± 11.05	108.50 ± 5.57	6.50 ± 0.57	4.63 ± 1.13
<i>G. acutata</i>	93.71 ± 11.78	124.00 ± 5.30*	7.00 ± 1.32	11.88 ± 1.26*
<i>M. terrestris</i>	96.57 ± 10.48	91.38 ± 4.93	6.88 ± 1.85	5.63 ± 1.60
<i>P. asparagi</i>	97.75 ± 12.60	106.50 ± 12.60	8.82 ± 1.10	8.13 ± 1.76

Os animais receberam os extratos na dose de 300 mg/kg, administrado pela via intragástrica (i.g.), uma hora antes do teste. Cada coluna representa a média ± S.E.M. (erro padrão da média) de 6-8 animais. Os asteriscos indicam o nível de significância em comparação ao grupo controle tratado com veículo (teste *t* de student) (*) P<0,05.

Apesar de preliminares, estes resultados apontam para uma ação do tipo antidepressiva dos extratos obtidos de fungos endofíticos do Guaraná. Alguns microrganismos podem realizar hibridização com suas plantas hospedeiras, fazendo com que eles produzam substâncias sintetizadas pela planta, e vice-versa. O guaraná possui uma rica composição de fitoquímicos como os polifenóis e metilxantinas, sendo que em alguns casos os efeitos antioxidantes desta espécie está associada proporcionalmente ao conteúdo de polifenóis dos extratos (YAMAGUTI-SASAKI et al, 2007). Interessantemente, os fitoquímicos presentes na *P. cupana* já foram associados a efeitos benéficos em modelos animais de neuropatologias e doenças neurodegenerativas (BOASQUIVIS, 2015).

De acordo com Scholey e Haskell (2008) a função terapêutica do guaraná mais conhecida é a de estimulante do sistema nervoso central (SNC). Além disso, em estudos conduzidos em animais de laboratório, esta planta demonstrou ação antioxidante (DALONSO & PTKOWICZ, 2012; ZEIDA'N-CHULIA' et al., 2013; BITTENCOURT et al., 2012), efeitos ansiolíticos (RONCON et. al, 2011) e efeitos do tipo antidepressivo (CAMPOS et al., 2005; OTOBONE et al., 2007). Muitos desses efeitos são atribuídos a xantinas, como cafeína, teobromina e teofilina, presentes em uma grande porcentagem da composição do guaraná. Flavonoides (catecol e epicatecol), guaranina, saponinas, colina e taninos catéquicos também estão presentes em quantidades significativas e são implicados em alguns dos efeitos biológicos do guaraná. A cafeína é uma metilxantina que apresenta efeito estimulante através da melhora do humor (LORIST; TOPS. 2003) e da função cognitiva (MERCADANTE; SERRETTA; CASUCCIO, 2001). Ademais, alguns pesquisadores relataram os efeitos preventivos e terapêuticos da cafeína em doenças neurológicas, tais como a Doença de Parkinson (XU; BASTIA; SCHWARSCHILD, 2005) e Alzheimer (ARENDASH; CAO, 2010). Considerando os

resultados deste trabalho, pode-se supor que alguns dos fitoquímicos atribuídos ao Guaraná possam estar presentes também nos extratos de seus fungos endofíticos, sendo responsáveis pelas ações observadas.

6 Considerações finais

Dos extratos dos fungos endofíticos, *Fusarium solani* (cepa 41BDA), *Gibberella zeae* (cepa 5S), *Glomerella acutata* (cepa 15S), *Mycoleptodiscus terrestris* (cepa 30TSA) e *Phomopsis asparagi* (cepa 38TSA), provenientes das raízes e sementes do Guaraná avaliados neste trabalho de conclusão de curso, as cepas *F. solani*, *G. acutata*, *M. terrestres* e a *P. asparagi* demonstraram ser promissores inibidores da MAO *in vitro*, *F. solani*, *M. terrestres* e a *P. asparagi* apresentaram uma ação do tipo antidepressiva *ex vivo* e a *G. acutata* parece induzir efeito psicoestimulante.

Estes resultados tornam os extratos deste estudo interessantes como alvo de trabalhos futuros na elucidação de seus efeitos biológicos, principalmente os que envolvem a) a inibição da *G. acutata* sobre a MAO-B, b) os efeitos sobre a atividade da MAO *ex vivo*, c) a composição química e o isolamento de substâncias, d) modelos de neuropsiquiátricas, com indução de comportamento do tipo depressivo e do tipo ansioso, e) modelos animais de doenças neurodegenerativas, como doença de Parkinson, e f) mecanismos de ação relacionados.

Além disso, o aperfeiçoamento das técnicas e procedimentos de cultura e extração dos fungos se faz necessária, para que haja um melhor rendimento dos extratos, uma vez que um possível isolamento de seus compostos ativos pode amparar o desenvolvimento de fármacos a partir destes endófitos.

7 8 – Referências Bibliográficas

ALEXOPOULOS, C. J.; MIMS, C. W.; BLACKWELL, M. *Introductory Mycology*. 4ed. New York: **John Wiley & Sons**, 1996.

ALTAMURA, A. C.; ARMADOROS, D.; JAEGER, M.; KERNISH, R.; LOCKLEAR, J.; VOLZ, H. P. Importance of open access to atypical antipsychotics for the treatment of schizophrenia and bipolar disorder: a European perspective. **Current Medical Research and Opinion** 24(8), 2271–2282, 2008. <https://doi.org/10.1185/03007990802250056>

ANDRADE, L. A. F.; FERRAZ, H. B. Inibição Enzimática, Neuroproteção e Tratamento da Doença de Parkinson. **Revista Neurociências**, 1997; 5(1), 27–33. <https://doi.org/10.34024/rnc.1997.v5.8992>.

ANISMAN, H.; REMINGTON, G.; SKALAR, L. S. Effect of inescapable shock on subsequent escape performance: catecholaminergic and cholinergic mediation of response initiation. **Psychopharmacology** 61:107-124, 1979.

ARENDASH, G. W.; CAO, C. Caffeine and coffee as therapeutics against Alzheimer's disease. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 20, p. S117-S126, 2010. Supplementum 1.

ARNOLD, A. E.; MAYANARD, Z.; GILBERT, G. S.; COLEY, P. D.; KURSAR, T. A. Are tropical fungal endophytes hyperdiverse? **Ecology Letters**, v. 3, p. 267-274, 2000.

AZEVEDO, J. L. Botânica: uma ciência básica ou aplicada? **Revista Brasileira de Botânica**, v.22, p. 225-229, 1999.

BASILE, A.; RIGANO, D.; CONTE, B.; BRUNO, M.; ROSSELLI, S.; SORBO, S. Antibacterial and antifungal activities of acetonic extract from *Paullinia cupana* Mart. seeds. **Natural Product Research**. 2013; 27: 2084–2090. <https://doi.org/10.1080/14786419.2013.784868> PMID: 23672664

BENOWITZ, N. L. Clinical pharmacology of caffeine. **Annual Review of Medicine** 1990; 41: 277-288.

BENTES, J. L. S.; COSTA NETO, P. Q. Variability of *Colletotrichum guaranicola* using AFLP markers. **Acta Amazonica**. 41, 251–256, 2011. <http://dx.doi.org/10.1590/S0044-59672011000200009>.

BÉRDY, J. Bioactive microbial metabolites. **The journal of antiobiotics**, vol. 58,1 p. 1-26, 2005. <https://doi.org/10.1038/ja.2005.1>

BITTENCOURT, L. S.; MACHADO, D. C.; MACHADO M. M.; DOS SANTOS, G. F. F.; ALGARVE, T. D.; MARINOWIC, D. R., RIBEIRO, E. E.; SOARES, F. A.; BARBISAN, F.; ATHAYDE, M. L.; CRUZ, I. B. The protective effects of guaraná extract (*Paullinia cupana*) on fibroblast NIH-3T3 cells exposed to sodium nitroprusside. **Food and Chemical Toxicology**. 2013; 53: 119–125. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.11.041> PMID: 23220610

BOASQUIVIS, Patricia Ferreira. **O extrato hidroalcoólico de guaraná (*Paullinia cupana*) atenua fenótipos patológicos associados ao mal de Alzheimer e à doença de Huntington no organismo modelo *Caenorhabditis elegans***. 2015. 105 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2015.

BOGAS, A. C.; FERREIRA, A. J.; ARAÚJO, W. L.; ASTOLFI-FILHO, S.; KITAJIMA, E. W.; LACAVA, P. T.; AZEVEDO, J. L. Endophytic bacterial diversity in the phyllosphere of Amazon *Paullinia cupana* associated with asymptomatic

and symptomatic anthracnose. **SpringerPlus**. 2015; 4: 258. <https://doi.org/10.1186/s40064-015-1037-0> PMID: 2609030

BOISSIER, J. R.; SIMON, P. Dissociation de deux composantes dans le comportement d'investigation de la souris. **Arch Int Pharmacodyn** 147:372-387, 1964.

BONATELLI, M. L.; TSUI, S.; MARCON, J.; BATISTA, B. D.; KITAJIMA, E. W.; PEREIRA J. O.; AZEVEDO, A. L.; QUECINE, M. C. Antagonistic activity of fungi from anthracnose lesions on *Paullinia cupana* against *Colletotrichum* sp. **Journal of Plant Pathology**. 2016; 98: 197–205. <https://doi.org/10.4454/JPP.V98I2.029>

BOOYSEN, H. P.; MORAAL, C.; TERRE'BLANCHE, G.; PETZER, A.; BERGH, J. J.; PETZER, J. P. Thio- and aminocaffeine analogues as inhibitors of human monoamine oxidase. **Bioorganic & medicinal chemistry**, 19(24), 7507–7518, 2011 <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2011.10.036>

BORTOLATO, M.; SHIH, J.C. Behavioral outcomes of monoamine oxidase deficiency: preclinical and clinical evidence. **International Review Neurobiology**, v. 100, p. 13-42, 2011., 2011. doi:10.1016/B978-0-12-386467-3.00002-9.

BRADFORD M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**. 72:248-254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3), 1976.

BYDLOWSKI, S. P.; D'AMICO, E. A.; CHAMONE, D. A. F. An aqueous extract of guarana (*Paullinia cupana*) decreases platelet thromboxane synthesis.

Brazilian Journal of Medical and Biological Research. 1991; 24: 421–424.
PMID: 1823256

BYDLOWSKI, S. P.; YUNKER, R. L.; SUBBIAH M. T. R. A novel property of an aqueous guarana extract (*Paullinia cupana*): inhibition of platelet aggregation in vitro and in vivo. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research.** 1988; 21: 535–538. PMID: 3228635

CAMPOS, A. R.; BARROS, A. I. S.; ALBUQUERQUE, F. A. A.; LEAL, L. K. A. M.; RAO, V. S. N. Acute effects of guarana (*Paullinia cupana Mart.*) on mouse behavior in forced swimming and open field tests. **Phytotherapy Research**, V. 19, n. 5, p. 441-443, 2005.

CAO, S.X.; YOU, J.L.; ZHOU, S.N. Endophytic fungi from *Musa acuminata* leaves and roots in South China. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, p. 169-171, 2002.

CARLILE, M.J.; WATKINSON S.C. **The Fungi.** Academic Press, New York, p. 482, 1997.

CASTAGNÉ, V.; PORSOLT, R. D.; MOSER, P.; 2006. Early behavioral screening for antidepressants and anxiolytics. **Drug Development Research.** 67, 729–742.

COELHO-CERQUEIRA, E.; NETZ, P. A.; DINIZ, C.; PETRY DP CANTO, V.; FOLLMER, C.; **Bioorganic Medicinal Chemistry.** 2011, 19,7416.

CORTEZ, C. M.; SILVA, D. Implicações do estresse sobre a saúde e a doença mental. **Arquivos Catarinenses de Medicina**, v. 36, n. 4, p. 96-108, 2007.

COSTA KREWER, C.; RIBEIRO, E.; RIBEIRO, E. M.; MORESCO, R. N.; UGALDE MARQUES DA ROCHA, M. I.; SANTOS MONTAGNER, G. F. F.; MACHADO, M. M.; VIEGAS, K.; BRITO, E.; CRUZ, I. B. M. Habitual intake of guaraná and metabolic morbidities: an epidemiological study of an elderly Amazonian population. **Phyther. Res.** 25, 1367–1374, 2001. <http://dx.doi.org/10.1002/ptr.3437>.

DA SILVA, I. P.; BRISSOW, E., KELLNER FILHO, L. C.; SENABIO, J.; DE SIQUEIRA K. A.; VANDRESEN FILHO S., et al. Bioactive compounds of *Aspergillus terreus*-F7, an endophytic fungus from *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**; 2017; 33-62. <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2228-3>.

DALONSO, N.; PETKOWICZ, C. L. O. Guarana powder polysaccharides: Characterisation and evaluation of the antioxidant activity of a pectic fraction. **Food Chemistry.** 2012; 134: 1804–1812. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.03.088> PMID: 23442624

DE FREITAS SIA, E.; MARCON, J.; LUVIXOTTO, D.; QUECINE, M., TSUI, S., PEREIRA, J.; PIZZIRANI-KLEINER, A. A.; AZEVEDO, J. L. Endophytic fungi from the Amazonian plant *Paullinia cupana* and from *Olea europaea* isolated using cassava as an alternative starch media source. **SpringerPlus. Springer International Publishing**; 2013; 2: 579. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-579> PMID: 25674409.

DEL GIGLIO, A.; DEL GIGLIO, A. Using *Paullinia cupana* (Guarana) to treat fatigue and other symptWHO of cancer and cancer treatment. In: Watson RR, Preedy VR, editors. Bioactive Nutraceuticals and Dietary Supplements in Neurological and Brain Disease: Prevention and Therapy. **Academic Press**; 2014. pp. 57–63. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-411462-3.00006-0>

DI CHIARA, G.; IMPERATO, A. Drugs abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentrations in the mesolimbic system of freely moving rats. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 85(14), 5274–5278., 1988.

DUARTE-ALMEIDA, J. M.; SANTOS, R. J. D.; GENOVESE, M. L.; LAJOLO, F.M. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema B-caroteno/ácido linoléico e método de seqüestro de radicais DPPH. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas. 26(2):446-452, 2006.

DUMAN, R.; MALBERG, J.; NAKAGAWA, S.; DÍSA, C. Neuronal plasticity and survival in mood disorders. **Biological Psychiatry** 48:732–739, 2000.

EVANS, P. R. Structural aspects of allostery. **Current Opinion in Structural Biology**. 1.773-779, 1991.

FERRARA, M. A. Fungos Endofíticos. Potencial para a Produção de Substâncias Bioativas. **Revista Fitos**, Rio de Janeiro, v.2, n.1, p.73-79, jun, 2006.

FOLLMER, C; BEZERRA NETO, H. J. C. Fármacos multifuncionais: monoamina oxidase e a-sinucleína como alvos terapêuticos na Doença de Parkinson. **Química Nova**, Vol. v. 36, n. 2, p. 306-313, 2013. Disponível em: . Acesso em: 28 de agosto de 2015.

FREDHOLM, B. B.; BATTIG, K.; HOLMEN, J.; NEHLIG, A.; ZVARTAU, E. E. Actions of caffeine in the brain with 210 chromosomes in guarana (*Paullinia cupana* ‘*Sorbilis*’). **Journal of Plant Research**, v. 120, p. 399-404, 2007.

FUKUMASU, H.; AVANZO, J. L.; NAGAMINE, M. K.; BARBUTO, J. A.; RAO, K. V., DAGLI, M. L. Z., 2008. *Paullinia cupana* Mart var. *sorbilis*, guaraná, reduces cell proliferation and increases apoptosis of B16/F10 melanoma lung metastases in mice. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. 41, 305–310. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-879X2008000400008>.

FUKUMASU, H.; LATORRE, A. O.; ZAIDAN-DAGLI, M. L., 2011. *Paullinia cupana* Mart. var. *sorbilis*, guarana, increases survival of Ehrlich ascites carcinoma (EAC) bearing mice by decreasing cyclin-D1 expression and inducing a G0/G1 cell cycle arrest in EAC cells. **Phyther. Res.** 25, 11–16. <http://dx.doi.org/10.1002/ptr.3216>

GAMBOA, M. A.; BAYMAN, P. Communities of endophytic fungi in leaves of a tropical timber tree (*Guarea guidonia*: Meliaceae). **Biotropica**. p. 352-360, 2001.

GAY, B. M.; PRIGOL, M.; STAIN, A. L.; NOGUEIRA, C. W. Antidepressant-like pharmacological profile of 3-(4-fluorophenylselenyl)-2,5-diphenylselenophene: Involvement of serotonergic system. **Neuropharmacology**, v. 59, n. 3, p. 172–9, set. 2010.

GLOVER, V.; SANDLER, M.; OWEN, F.; RILEY, G. J. Dopamine is a monoamine oxidase B substrate in man. **Nature**. 265, 80–81, 1977. <https://doi.org/10.1038/265080a0>.

GOODMAN, L. S. e GILMAN, A. **As bases da farmacologia farmacêutica de Goodman & Gilman**. 12ª ed. Porto Alegre: AMGH, 2012.

GRAEFF, F. G. Drogas Psicotrópicas e Seu Modo de Ação. **Editora Universidade de São Paulo - EDUSP** (São Paulo), 110 páginas. 1984.

GUO, B.; WANG, Y.; SUN, X.; TANG, K. Bioactive Natural Products from Endophytes: A Review. **Applied Biochemistry and Microbiology**. v. 44, No. 2, p. 136–142, 2008.

HAMMES, G. G. Multiple conformational changes in enzyme catalysis. **Biochemistry**, 41(26), 8221-8228, 2002. DOI: [10.1021/bi0260839](https://doi.org/10.1021/bi0260839)

HAWKSWORTH, D. L. The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revisited. **The British Mycological Society**, p.1422-1432, 2001.

HENMAN A. R. Guaraná (*Paullinia cupana* var. *sorbilis*): Ecological and social perspectives on an economic plant of the central Amazon basin. **Journal Ethnopharmacology** 1982;6:311-338.

HENRIQUES, S. G.; FRÁGUAS, R.; IOSIFESCU, D. V.; MENEZES, P. R.; LUCIA, M. C. S.; GATTAZ, W. F.; MARTINS, M. A. Recognition of depressive symptWHO by physicians. **Clinics**, São Paulo, v. 64, n. 7, p. 629-635, 2009. Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1807-59322009000700004&lng=en&nrm=iso>.

HIMMELHOCH, J. M. **Monoamine oxidase inhibitors**. In: Kaplan HI, Sadock BJ, editors. *Comprehensive textbook of psychiatry*. 6th ed. Baltimore: Williams & Wilkins; p. 2038-56, 1995.

IMPERATO, A.; MULAS, A.; DI CHIARA, G. Nicotine preferentially stimulates dopamine release in the limbic system of freely moving rats. **European journal of pharmacology**, 132(2-3), 337–338, 1986. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(86\)90629-1](https://doi.org/10.1016/0014-2999(86)90629-1).

JOCA, S. R. L.; PADOVAN, C. M.; GUIMARÃES, F. S. Estresse, depressão e hipocampo. Stress, depression and the hippocampus. **Revista Brasileira de Psiquiatria.**, v v. 25, n. Supl II, p. 46-51, 2003.

JOHNSTON, J. P. Some observations upon a new inhibitor of monoamine oxidase in brain tissue, **Biochemical Pharmacology**, Volume 17, Issue 7, Pages 1285-1297, ISSN 0006-2952,1968. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(68\)90066-X](https://doi.org/10.1016/0006-2952(68)90066-X).

KALUDERCIC, N.; CARPI, A.; NAGAYAMA, T.; SIVAKUMARA, V.; ZHU, G.; LAI, E. W.; BEDJA, D.; DE MARIO, A.; CHEN, K.; GABRIELSON, K. L.; PACAK, K.; TAKIMATO, E.; SHIH, J. C.; KASS, D. A; DI LISA, F.; PAOLOCCI, N. Monoamine oxidase B prompts mitochondrial and cardiac dysfunction in pressure overloaded hearts. **Antioxidants & redox signaling**, 20(2), 267–280, 2014. <https://doi.org/10.1089/ars.2012.4616>.

KENNEDY, D. O.; HASKELL, C. F.; WESNES, K. A.; SCHOLEY, A. B. Improved cognitive performance in human volunteers following administration of guarana (Paullinia cupana) extract: comparison and interaction with Panax ginseng. **Pharmacology Biochemistry Behavior**. 79:401-411, 2004.

KESSEL, J. B.; SIMPSON, G. M. **Tricyclic and Tetracyclic Drugs**. In: Kaplan HI , Sadock BJ, editors. *Comprehensive Textbook of Psychiatry*. 6th ed. Baltimore: Williams e Wilkins; 1995. p. 2096-112.

KILLINGER, Catherine E.; ROBINSON, Stacey; STANWOOD, Gregg D. Subtle biobehavioral effects produced by paternal cocaine exposure. **Synapse**, v. 66, n. 10, p. 902-908, 2012.

LIM, W. A. The modular logic of signaling proteins: building allosteric switches from simple binding domains. **Current opinion in structural biology**, 12(1), 61-68, 2002. DOI: [10.1016/s0959-440x\(02\)00290-7](https://doi.org/10.1016/s0959-440x(02)00290-7)

LIOTTI, R. G.; DA SILVA FIGUEIREDO, M. I.; DA SILVA, G. F.; DE MENDONÇA, E. A. F.; SOARES, M. A. Diversity of cultivable bacterial endophytes in *Paullinia cupana* and their potential for plant growth promotion and phytopathogen control. **Microbiological Research**. 207:8-18, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.10.011>.

LORIST, M. M.; TOPS, M. Caffeine, fatigue and cognition. **Brain and Cognition**, v. 53, n. 1, p. 82-94, 2003.

MARGIS, R.; PICON, P.; COSNER, A. F.; SILVEIRA, R. O. Relação entre estressores, estresse e ansiedade. **Revista de Psiquiatria do Rio Grande do Sul**, v. 25, n. 1, p. 65-74, 2003.

MARTINS, M.; KLUCZKOVSKI, A.; DE SOUZA, T.; PACHECO, C.; SAVI, G.; SCUSSEL, V. Inhibition of growth and aflatoxin production of *Aspergillus parasiticus* by guarana (*Paullinia cupana* Kunth) and juc (*Libidibia ferrea* Mart) extracts. **African Journal of Biotechnology**. Academic Journals; 13: 131–137, 2014. <https://doi.org/10.5897/AJB2013.13444>

MARZZOCO, A. & TORRES, B. B. **Bioquímica Básica**. 4ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015.

MATTEI, R.; DIAS, R. F.; ESPÍNOLA, E. B. Guaraná (*Paullinia cupana*): toxic behavioral effects in laboratory animals and antioxidant activity in vitro. **Journal Ethnopharmacology**; 60:111-116, 1998.

MERCADANTE, S.; SERRETTA, R.; CASUCCIO, A. Effects of caffeine as an adjuvant to morphine in advanced cancer patients: a randomized, double-blind, placebo controlled, crossover study. **Journal of Pain and Symptom Management**, v. 21, n. 5, p. 369-372, 2001.

MILLAN, M. J. Multi-target strategies for the improved treatment of depressive states: Conceptual foundations and neuronal substrates, drug discovery and therapeutic application. **Pharmacology & Therapeutics** 110, 135-370, 2006.

MILLAN, M. J. On 'polypharmacy' and multi-target agents, complementary strategies for improving the treatment of depression: a comparative appraisal. **International Journal Neuropsychopharmacology**, 1-29, 2013.

MILLAN, M. J. The role of monoamines in the actions of established and "novel" antidepressant agents: a critical review. **European Journal Pharmacology** 500, 371-384, 2004.

MOREIRA, F.; ALVES, A. A. Utilização de anfetaminas como anorexígenos relacionados a obesidade. **Revista científica da FHO/Uniararas**, v. 3, n1/2015, 2015.

MORENO, R. A.; MORENO, D. H.; SOARES, M. B. M. Psicofarmacologia de antidepressivos. **Brazilian Journal of Psychiatry**. 1999, v. 21, suppl 1, pp. 24-40. <https://doi.org/10.1590/S1516-44461999000500006>.

MORINAN, A.; GARRATT, H. M. An improved fluorimetric assay for brain monoamine oxidase. **Journal of Pharmacological Methods**, v. 13, n. 3, p. 213-23, 1985.

MUELLER, G.M.; BILLS, G.F.; FOSTER, M.S. Biodiversity of Fungi – Inventory and monitoring methods. In: STONE, J.K.; POLISHOOK, J.D.; WHITE, J.F.J. **Endofitic Fungi**. Elsevier Academic Press, p. 241-270, 2004.

MUSAZZI, L.; RACAGNI, G.; POPILI, M. Stress, glucocorticoids, and glutamate release: effects of antidepressant drugs. *Neurochem Int* 59: 138-149. **Neurochemistry International**. 59. 138-49. 10.1016/j.neuint.2011.05.002.

NEVES, António Luís Alexandre. **Tratamento farmacológico da depressão**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2015.

O'DEA, J. A. Consumption of nutritional supplements among adolescents: usage and perceived benefits. **Health Education Research** 2003;18:98-107.

OLIVEIRA, C. H.; MORAES, M. E.; MORAES, M. O.; BEZERRA, F. A.; ABIB, E.; DE NUCCI, G. Clinical toxicology study of an herbal medicinal extract of *Paullinia cupana*, *Trichilia catigua*, *Ptychopetalum olacoides* and *Zingiber officinale* (Catuama) in healthy volunteers. **Phytotherapy Research**. 2005;19:54-57.

OTOBONE, F. J.; SANCHES, A. C. C.; NAGAE, R.; MARTINS, J. V. C.; SELA, V. R.; DE MELLO, J. C. P.; AUDI, E. A. Effect of lyophilized extracts from guarana seeds [*Paullinia cupana* var. *sorbilis* (Mart.) Ducke] on behavioral profiles in rats. **Phytotherapy Research**, v. 21, p. 531-535, 2007.

PETIT-DEMOULIERE, B.; CHENU, F.; BOURIN, M. Forced swimming test in mice: a review of antidepressant activity. **Psychopharmacology**, 177(3), 245–255, 2005. <https://doi.org/10.1007/s00213-004-2048-7>

PORSOLT, R. D., 1981. Behavioral despair. In: Enna S J, Malick JB, Richelson E (eds) **Antidepressants: Neurochemical, behavioral and clinical perspectives**. Raven Press New York, pp 121-139.

PORSOLT, R. D.; ANTON, G.; BLAVET, N.; JALFRE, M. 1978. Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments. **European Journal Pharmacology**. 47, 379–391.

PORSOLT, R. D.; BERTIN, A.; JALFRE, M. 1977a. Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants. **Archives Internationales Pharmacodynamie Therapie** 229, 327–336.

PORSOLT, R. D.; LE PICHON, M.; JALFRE, M. 1977b. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. **Nature** 266, 730–732.

PURI, S. K.; HABBU, P. V.; KULKARNI, P. V.; KULKARNI, V. H. Nitrogen containing secondary metabolites from endophytes of medicinal plants and their biological/pharmacological activities-a review. **Systematic Reviews in Pharmacy**, 2019(1):22-30. DOI:10.5530/srp.2018.1.5.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; FLOWER, R. J.; HENDERSON, G. **Farmacologia**. 7^a ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011.

RENFREW, E. **Trends in beverage markets**. In: Ashurst PR, editor. Chemistry and Technology of Soft Drinks and Fruit. 3rd ed. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd; 2016. pp. 15–30. [https://doi.org/ 10.1002/9781118634943](https://doi.org/10.1002/9781118634943)

RONCON, C. M.; DE ALMEIDA, C. B.; KLEIN, T.; DE MELLO, J. C. P.; AUDE, E. A. Anxiolytic effects of a semipurified constituent of guarana seeds on rats in the elevated T-maze test. **Planta Medica**. 77: 236–241, 2011. <https://doi.org/10.1055/s-0030-1250315> PMID: 20845263

ROSA, L. H.; TABANCA, N.; WEDGE, D. E.; PAN, P.; BERNIER, U. R.; BECNEL, J. J.; AGRAMONTE, N. M.; WALKER, L. A.; MORAES, R. M. Diversity and Biological Activities of Endophytic Fungi Associated with Micropropagated

Medicinal Plant *Echinacea purpurea* (L.) Moench. **American Journal of Plant Sciences**. 2012; 3:1105-1114. DOI:10.4236/ajps.2012.38133.

SAIKKONEN, K.; FAETH, S.H.; HELANDER, M.; SULLIVAN, T.J. Fungal endophytes: continuum of interactions with host plants. **Annual Review of Ecology and Systematics**, p. 319-343, 1998.

SANACORA, G.; BANASR, M. From pathophysiology to novel antidepressant drugs: glial contributions to the pathology and treatment of mood disorders. **Biological psychiatry**, 73(12), 1172–1179, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2013.03.032>

SAVIDOV, N.; GLORIOZOVA, T. A.; POROIKOV, V. V.; DEMBITSKY, V. M. Highly oxygenated isoprenoid lipids derived from fungi and fungal endophytes: origin and biological activities. **Steroids**. 140:114-124, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2018.10.006>.

SCAVONE, C.; GORENSTEIN, C. Antidepressivos e lítio. In: Valle LBS, DeLucia R, Oliveira-Filho RM, editors. Farmacologia integrada. Rio de Janeiro: **Editora Ateneu**; 1991. v.2, p.77-86. 2.

SCHILDKRAUT, J. J. The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. **The American journal of psychiatry**, 122(5), 509–522, 1965. <https://doi.org/10.1176/ajp.122.5.509>

SCHIMPL, F. C.; DA SILVA, J. F.; GONÇALVES, J. F.; MAZZAFERA, C. P. Guarana: revisiting a highly caffeinated plant from the Amazon. **J. Ethnopharmacol.** 150, 14–31, 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2013.08.023>.

SCHOLEY, A.; HASKELL, C. Neurocognitive effects of guaraná plant extract. **Drugs of the Future**, v. 33, n. 10, p. 869, 2008. <https://doi.org/10.1358/dof.2008.33.10.1250977>.

SCHULTZ, W. Dopamine reward prediction-error signalling: a two-component response. **Nature reviews. Neuroscience**, 17(3), 183–195, 2016. <https://doi.org/10.1038/nrn.2015.26>

SCHULTZ, W.; DAYAN, P.; MONTAGUE, P. R. A neural substrate of prediction and reward. **Science** (New York, N.Y.), 275(5306), 1593–1599, 1997. <https://doi.org/10.1126/science.275.5306.1593>

SCHULZ, B.; BOYLE, C. The endophytic continuum. **Mycology Research**. p. 661-686, 2005.

SCHULZ, B.; BOYLE, C.; DRAEGER, S.; RÖMMERT, A.; KROHN, K. Endophytic fungi: a source of novel biologically active secondary metabolites. **Mycology Research**. p. 996- 1004, 2002.

SCHULZ, B.; RÖMMERT, A-K.; DAMMANN, U.; AUST, H-J.; STRACK, D. The endophyte-host interaction: a balanced antagonism? **Mycology Research**, v. 10, p.1275- 1283, 1999.

SETTE, C. V. de M.; RIBAS DE ALCÂNTARA, B. B.; SCHOUERI, J. H. M.; CRUZ, F. M., CUBERO, D. I. G.; PIANOWSKI, L. F.; et al. Purified dry Paullinia cupana (PC-18) extract for chemotherapy-induced fatigue: results of two doubleblind randomized clinical trials. **Journal of Dietary Supplements**. Taylor & Francis; 2017; 1–11. <https://doi.org/10.1080/19390211.2017.1384781> PMID: 29190155

SILVA, F. A.; LIOTTI, R. G.; BOLETI, A. P. D. A.; REIS, É. M.; PASSOS, M. B. S.; DOS SANTOS, E. L.; SAMPAIO, O. M.; JANUÁRIO, A. H.; BRANCO, C. L. B.; DA SILVA, G. F.; MENDONÇA, E. A. F; SOARES, M. A. Diversity of cultivable fungal endophytes in *Paullinia cupana* (Mart.) Ducke and bioactivity of their secondary metabolites. **PLoS ONE**. 13(4):e0195874, 2018. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0195874>.

SILVA, Monique Suela. **Fungos endofíticos fontes promissoras de novas substâncias com atividades antioxidante e antiviral**. Monografia (Especialização em Microbiologia) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte. 2009.

SNYDER, S. H. Drugs and the brain. New York: **W.H. Freeman & Co**, 1996.

STAHL, S. M. Essential psychopharmacology of depression and bipolar disorder. **Cambridge University Press**, 2000.

STERU, L.; CHERMAT, R.; THIERRY, B.; SIMON, P. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. **Psychopharmacology**. 1985;85(3):367-370, 1985. <https://doi.org/10.1007/BF00428203>.

STONE, J. K.; BACON, C. W.; WHITE, J. F. An overview of endophytic microbes: endophytism defined. In: C.W. BACON & J.F. WHITE (Ed.) **Microbial Endophytes**. New York: Marcel Dekker.pp. 3-30, 2000.

STROBEL, G. A. Endophytes as sources of bioactive products. **Microbes and Infection**. v.5, p.535-544, 2003.

STROBEL, G. A.; DAISY, B.; CASTILLO, U.; HARPER, J. Natural products from endophytic microorganisms. **Journal of Natural Products**, v. 67, p. 257-268, 2004.

TAN, R. X.; ZOU, W. X. Endophytes: a rich source of functional metabolites. **The Royal Society of Chemistry**. p.448-459, 2001.

TENG, C. T.; HUMES, E. de C.; DEMETRIO, F. N. Depressão e comorbidades clínicas. **Revista de Psiquiatria Clinica**, v. 32, n. 3, p. 149-159, 2005.

THASE, M. E. The multifactorial presentation of depression in acute care. **Journal of Clinical Psychiatry**. 74 Suppl 2, 3-8, 2013.

THIERRY, B.; STDRU, L.; CHERMAT, R.; SIMON, P. Searching-Waiting strategy: a candidate for an evolutionary model of depression? **Behavioural and Neural Biology** 41:180-189, 1984.

TYRER, P. Clinical use of monoamine oxidase inhibitors. In *Psychopharmacology of Affective Disorders* Eds., ES Paykel and A Coppen. Oxford: **Oxford University Press**, pp. 159-178, 1979.

ÜSTÜN, T.; AYSO-MATEOS, J.; CHATTERJI, S.; MATHERS, C.; MURRAY, C. Global burden of depressive disorders in the year 2000. **British Journal of Psychiatry**, 184(5), 386-392, 2004. Doi:10.1192/bjp.184.5.386

VIEIRA, Mariana de Lurdes Almeida. **Bioprospecção da atividade antimicrobiana de fungos endofíticos associados a *Solanum cernuum* vell. (*solanaceae*)**. Dissertação de mestrado. UFMG, 2008, 117p.

VOET, D; VOET, J. G; PRATT, C.W. **Fundamentos de Bioquímica**. Artmed, Porto Alegre, 2002.

WALSH, R. N.; CUMMINS, R. A. The Open-Field Test: a critical review. **Psychological Bull.** 1976, 83:482-504.

WESTLUND, K. N.; DENNEY, R. M.; ROSE, R. M.; ABELL, C. W. Localization of distinct monoamine oxidase A and monoamine oxidase B cell populations in human brainstem. **Neuroscience**, 25(2), 439–456, 1988. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(88\)90250-3](https://doi.org/10.1016/0306-4522(88)90250-3).

WHO – World Health Organization. Depression and other common mental disorders: global health estimates. Geneva: **World Health Organization**, 2017. Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/254610/WHO-MSD-MER-2017.2-eng.pdf;jsessionid=DB1CFDEBFD92D24CB6B7A3030A43F5C4?sequence=1>.

WISE, R. A. Neural mechanisms of the reinforcing action of cocaine. **NIDA research monograph**, 50, 15–33, 1984.

WISE, R. A.; BOZARTH, M. A. A psychomotor stimulant theory of addiction. **Psychological Review**, Washington, v.94, p.469-492, 1987.

WONG, M-L.; LICINIO, J. Research and treatment approaches to depression. *Nat Rev Neurosci* 2:343–351, 2001.

XU, K.; BASTIA, E.; SCHWARSCHILD, M. Therapeutic potential of adenosine A2a receptor antagonists in Parkinson's disease. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 105, n. 3, p. 267-310, 2005.

YAMAGUTI-SASAKI, E.; ITO, L. A., CANTELI, V. C. D., USHIROBIRA, T. M. A., UEDA-NAKAMURA, T., FILHO, B. P. D., NAKAMURA, C. V., PALAZZO DE MELLO, J. C. Antioxidant capacity and in vitro prevention of dental plaque

formation by extracts and condensed tannins of *Paullinia cupana*. **Molecules** 12, 1950–1963, 2007. <http://dx.doi.org/10.3390/12081950>.

YANG, H. Y.; NEFF, N.H. The monoamine oxidases of brain: selective inhibition with drugs and the consequences for the metabolism of the biogenic amines. **The Journal of pharmacology and experimental therapeutics**. 189(3), 733–740, 1974.

YOUDIM, M. B.; EDMONDSON, D.; TIPTON, K. F. The therapeutic potential of monoamine oxidase inhibitors. **Nature reviews Neuroscience**, 7(4), 295–309, 2006. <https://doi.org/10.1038/nrn1883>.

ZEIDÁN-CHULIÁ, F.; GELAIN, D. P.; KOLLING, E. A.; RYBARCZYK-FILHO, J. L.; AMBROSI, P.; TERRA, S. R.; PIRES, A. S; DA ROCHA, J. B.; BEHR, G. A.; MOREIRA, J. C. Major components of energy drinks (Caffeine, Taurine, and Guarana) exert cytotoxic effects on human neuronal SH-SY5Y cells by decreasing reactive oxygen species production. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**. Hindawi; 2013; 2013: 1–22, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/791795> PMID: 23766861.