

UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
KATEDRA FARMAKOGNOZIE A FARMACEUTICKÉ BOTANIKY



DIPLOMOVÁ PRÁCE

**INDOLOVÉ ALKALOIDY A JEJICH BIOLOGICKÁ AKTIVITY: ROD
*BANISTERIOPSIS***

Vedoucí diplomové práce: PharmDr. Marcela Šafratová, Ph.D.

Hradec Králové, květen 2022

Karolína Nieslaníková

CHARLES UNIVERSITY
FACULTY OF PHARMACY IN HRADEC KRALOVE
DEPARTMENT OF PHARMACOGNOSY AND PHARMACEUTICAL BOTANY



DIPLOMA THESIS

**INDOLE ALKALOIDS AND THEIR BIOLOGICAL ACTIVITY: GENUS
*BANISTERIOPSIS***

Supervisor: PharmDr. Marcela Šafratová, Ph.D.

Hradec Králové, May 2022

Karolina Nieslaniková

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že tato práce je mým autorským dílem, na které jsem vypracovala samostatně. Veškerá použitá literatura a zdroje, z kterých jsem čerpala při zpracování diplomové práce, jsou řádně uvedeny v seznamu použité literatury. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

V Hradci Králové, květen 2022

.....

Podpis

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych touto cestou vyjádřila poděkování své školitelce PharmDr. Marcele Šafratové, Ph.D. za její pomoc, čas, trpělivost a cenné rady při vedení mé rešeršní práce a práce v laboratoři. V neposlední řadě bych chtěla poděkovat své rodině a přátelům za podporu během mého studia.

Tato práce vznikla za finanční podpory projektu Specifického vysokoškolského programu SVV 260 550.

Obsah

Obsah.....	4
Seznam obrázků	8
Seznam tabulek.....	9
1. Úvod.....	10
2. Cíle diplomové práce.....	13
3. Čeleď Malpighiaceae.....	14
3.1 Popis a morfologické znaky rostlin čeledi Malpighiaceae	14
3.2 Genus <i>Diplopterys</i> versus genus <i>Banisteriopsis</i>	15
4. Rod Banisteriopsis.....	16
4.1 Charakteristika rodu <i>Banisteriopsis</i>	16
4.2 Geografické rozšíření	17
4.3 Morfologické a taxonomické znaky	17
4.4 Užití v tradičním lidovém léčitelství	18
4.5 Nápoj Ayahuasca	18
4.5.1 Legalizace ayahuasky v ČR a ve světě.....	19
4.6 Příprava Ayahuascy tradičně a v klinických výzkumech	20
4.6.1 Tradiční příprava	20
4.6.2 Příprava vodného extraktu v klinických výzkumech	21
4.7 Mechanismus účinku nápoje Ayahuascy a projevy intoxikace	21
4.7.1 <i>Psychotria viridis</i> (Rubiaceae)	22
4.8 Fytochemicky významné rostliny rodu <i>Banisteriopsis</i>	24
4.8.1 <i>Banisteriopsis caapi</i> (Spruce ex Griseb.) Morton.....	24
4.8.2 <i>Banisteriopsis laevifolia</i> (A.Juss.) B.Gates	25
4.8.3 <i>Banisteriopsis muricata</i> (Cav.) Cuatrec.	26

4.8.4	<i>Banisteriopsis argentea</i> (Kunth) C. B. Rob.	27
4.8.5	<i>Banisteriopsis campestris</i> (A. Juss.) Little	27
4.8.6	<i>Banisteriopsis anisandra</i> (A. Juss) B. Gates	28
4.8.7	<i>Banisteriopsis oxyclada</i> (A.Juss.) B. Gates	29
4.8.8	<i>Diplopterys cabrerana</i> (Cuatrec.) B. Gates syn. <i>Banisteriopsis rusbyana</i> (Nied.) Morton	30
4.8.9	<i>Diplopterys pubipetala</i> (A.Juss.) W.R.Anderson & C.Davis, synonym <i>Banisteriopsis pubipetala</i> (A. Juss.) Cuatrec.	31
4.8.10	<i>Banisteriopsis malifolia</i> (Ness & Mart.) B. Gates	32
4.8.11	<i>Banisteriopsis argyrophylla</i> (A. Juss.) B. Gates	33
5.	Alkaloidy rodu <i>Banisteriopsis</i> a jejich biosyntéza	34
5.1	Přehled struktur alkaloidů izolovaných z rodu <i>Banisteriopsis</i>	34
5.2	Struktury β -karbolinových alkaloidů	35
5.3	Struktury tryptaminových alkaloidů	36
5.4	Indolové alkaloidy	37
5.4.1	β -karbolinové alkaloidy	37
5.4.2	Biosyntéza β -karbolinových alkaloidů	38
5.4.3	Tryptaminové alkaloidy	40
5.4.4	Biosyntéza tryptaminových alkaloidů	40
6.	Biologická aktivita a klinické užití indolových alkaloidů rodu <i>Banisteriopsis</i>	41
6.1	Neuroprotektivní působení	41
6.1.1	Parkinsonova choroba	41
6.1.2	MAO a její inhibitory	42
6.1.3	Eflux DA ze striatálních buněk a inhibice MAO	44
6.1.4	Alzheimerova choroba	45
6.1.5	Protizánětlivá aktivita	46
6.1.6	Antioxidační aktivita	47
6.2	Deprese	48

6.3 Antiadiktivní aktivita.....	49
6.4 Antitumorová aktivita.....	50
6.5 Antiparazitární působení.....	51
6.6 Antiagregační aktivita.....	52
6.7 Antimikrobiální aktivita	52
6.8 Antidiabetická aktivita.....	54
7. Závěr.....	56
8. Literatura.....	58
Abstrakt.....	67
Abstract.....	68

Seznam zkratek

AChE	acetylcholinesterasa
BDNF	mozkový neurotrofický faktor
BuChE	butyrylcholinesterasa
COMT	katechol-O-methyltransferasa
DA	dopamin
DMT	<i>N,N</i> -dimethyltryptamin
DYRK	duálně specifické kinasy regulované fosforylací tyrosinu
5-HT	5-hydroxytryptamin, serotonin
IC ₅₀	inhibiční aktivita
LSD	diethylamid kyseliny lysergové
MAO	monoaminoxidasa
MAOi	inhibitory monoaminoxidasy
NMDA	<i>N</i> -methyl-D-asparagová kyselina
PAP	psychedeliky asistovaná terapie
PD	Parkinsonova choroba
PTSD	posttraumatická stresová porucha
THH	tetrahydroharmin
TNF- α	tumor nekrotizující faktor α

Seznam obrázků

Obrázek 1: Zleva: Květy různých rodů v čeledi <i>Malpighiaceae</i>	15
Obrázek 2: Výskyt rostlin rodu <i>Banisteriopsis</i> v Jižní a Střední Americe.....	17
Obrázek 3: Příprava ayahuasky pro rituální účely	20
Obrázek 4. Podobnost serotoninu a DMT a jejich biosyntéza z tryptofanu.....	22
Obrázek 5: <i>Psychotria viridis</i> (Rubiaceae)	23
Obrázek 6: Květ <i>Banisteriopsis caapi</i> a příčný řez větve liány	25
Obrázek 7: Průřez větve ²¹ a květ <i>B. laevifolia</i>	26
Obrázek 8 Průřez stonku a květ <i>B. muricata</i>	27
Obrázek 9: Květ a listy <i>B. campestris</i>	28
Obrázek 10: Listy a květ <i>B. anisandra</i>	29
Obrázek 11: Listy a květy <i>B. oxyclada</i>	30
Obrázek 12: <i>D. cabrerana (chaliponga)</i>	31
Obrázek 13: List a květ <i>D. pubipetala</i>	32
Obrázek 14: Květ a listy <i>B. malifolia</i> (Ness & Mart.) B. Gates.....	33
Obrázek 15: Snímek <i>B. argyrophylla</i>	33
Obrázek 16: Biosyntéza harmalových alkaloidů.....	39
Obrázek 17: Biosyntéza DMT.....	40
Obrázek 18: Výsledky léčby závislostí v centru Takiwasi z roku 2002 a 2008.....	50
Obrázek 19: Schéma mechanismu neuroprotektivního a antidiabetického účinku harminu...55	

Seznam tabulek

Tabulka 1: Alkaloidy vyskytující se v rostlinách rodu <i>Banisteriopsis</i>	34
Tabulka 2: Biologická aktivita β -karbolinových alkaloidů na MAO-A a MAO-B	43
Tabulka 3: Inhibice krysího jaterního enzymu MAO	43
Tabulka 4: Přehled základních cílů působení harminu	44
Tabulka 5: Zvýšené uvolňování DA ve striatálních řezech krys	45
Tabulka 6: Inhibice rekombinantního DYRK1A	46
Tabulka 7: IC_{50} harmalových alkaloidů v porovnání s fysostigminem	46
Tabulka 8: Koncentrace β -karbolinů potřebná k supresi prozánětlivých cytokinů BV-2	47
Tabulka 9: Souhrn studií, zabývajících se antitumorovou aktivitou harminu	50
Tabulka 10: IC_{50} β -karbolinů vůči <i>T. gondii</i> , <i>P. falciparum</i> , <i>L. infantum</i> a <i>T. gallinae</i>	51
Tabulka 11: Inhibice agregace králičích krevních destiček	52
Tabulka 12: MIC (mg/mL) vzorků obsahujících <i>B. caapi</i>	53
Tabulka 13: MIC (μ g/ml) β -karbolinových alkaloidů proti G+ bakteriím	53
Tabulka 14: MIC (μ g/ml) β -karbolinových alkaloidů proti G- bakteriím	54

1. Úvod

V úvodu se zabývám historií, současným pohledem a směřováním výzkumu psychedelických látek. Kvůli rekreačnímu zneužívání si tyto látky s sebou nesly stigma pouhých halucinogenů, a tím byl jejich výzkum a možné využití v praxi oddáleno. Rod *Banisteriopsis* je převážně znám díky tomu, že druh *B. caapi* je součástí psychotropního nápoje ayahuaska. Tento rod však kromě svého halucinogenního účinku nabízí spoustu dalších zajímavých biologických aktivit ke zkoumání. Dále jsem zde zahrnula přehled halucinogenních látek a snažila se je klasifikovat podle mechanismu účinku a jejich struktury.

Psychedelické látky rostlinného původu provázely lidstvo již odpradávná jako součást náboženských, rituálních a mystických obřadů. Avšak k první syntéze látky s psychoaktivním účinkem došlo až díky Albertu Hofmannovi v roce 1938. Jednalo se o diethylamid kyseliny lysergové (LSD), na jejíž halucinogenní účinky přišel tento vědec náhodou až v roce 1943.¹ Po tomto objevu došlo celosvětově k „boomu“ v oblasti výzkumu těchto látek, hlavně v 50. a 60. letech minulého století. V USA v roce 1970 došlo z politických a sociálních důvodů k zařazení psychedelik na seznam I. zákona o regulovaných látkách (Controlled Substances Act - CSA), a tím došlo k omezení až k zrušení jejich výzkumu a k zákazu jejich užívání. Na tomto seznamu jsou tyto látky do dnešní doby.^{2,3} Československo bylo v tomto ohledu výjimkou, bylo považováno za jednu z nejméně aktivních zemí své doby. Legálně zde bylo možné provádět výzkum, užívat psychedelika v rámci terapie a vyrábět LSD až do roku 1974.⁴ Celosvětově známou, ale i kontroverzní postavou je prof. MUDr. Stanislav Grof, Ph.D., psychiatr, který se v Československu v 50. a 60. letech podílel na výzkumech psychedelik ve Výzkumném ústavu psychiatrickém v Praze. Sám na sobě i na svých pacientech zkoušel účinky LSD a v těchto výzkumech pokračoval i v emigraci v USA. Je jedním z hlavních zakladatelů transpersonální psychologie, která se zabývá transpersonálními a spirituálními zážitky mimo jiné navozené psychedeliky.^{4,5}

V poslední době dochází k druhé vlně ve výzkumu psychedelických látek, kde se výzkumní pracovníci zaměřují na psychedelika jako na neurofarmaka k léčbě deprese, závislostí a úzkostných poruch, ale dochází i k objevu jiných biologických aktivit těchto látek.^{1,3} Jejich výhodou je, že nezpůsobují závislost, mají nízkou fyziologickou toxicitu a ve srovnání s běžnými antidepresivy mají relativně málo vedlejších účinků. Rychlejší a dlouhodobější efekt se prokázal, jak po jednorázovém podání, tak i po dlouhodobém užívání. Tyto výhody v nízké toxicitě však nemusí platit pro každou

halucinogenní drogu stejně. Problémem, který nelze opomenout u těchto látek, může být riziko rekreačního zneužívání a riziko vyvolání psychózy u predisponovaných jedinců.^{3,6}

Klasifikovat psychedelika můžeme podle typu účinku na klasická a atypická. Zároveň klasická psychedelika lze ještě rozdělit podle struktury na tryptaminy a fenethylaminy. Mezi tryptaminy řadíme LSD, syntetizovaný z námelu *Paličkovice nachové* (*Claviceps purpurea*), psilocybin, obsažený převážně v houbách rodu *Psilocybe*, bufotenin 5-MeO-DMT, který je možno nalézt v semenech stromu rodu *Anadenanthera*, nebo sekretu ropuchy coloradské (*Bufo alvarius*). Tyto struktury, díky své podobě se serotoninem, působí primárně na 5-HT receptory v mozku. Meskalin, izolován poprvé z kaktusu *Lophophora williamsii* (peyotl, San Pedro) a MDMA (3, 4-methylendioxyamfetamin), látka známá také pod názvem extáze a působící jako empatogen/entaktogen, řadíme do kategorie klasických psychedelik typu fenethylaminů.^{1,7} Atypická psychedelika od těch klasických odlišujeme na základě jiného mechanismu účinku, než je agonismus na 5-HT receptorech. Avšak lze zde zařadit i již zmiňované LSD, jelikož kromě působení na 5-HT receptory působí i na DA (dopaminové) receptory. Mezi atypická psychedelika patří disociativní anestetikum ketamin, působící jako antagonist NMDA receptoru a anestetikum fencyklidin. Další látky, které zde můžeme zařadit jsou některé kanabinoidy (THC), delirogeny atropin a skopolamin, salvinorin A, izolován z šalvěže divotvorné (*Salvia divinorum*, *Lamiaceae*) a ibogain (*Tabernanthe iboga*, *Apocynaceae*).^{3,7}

V současné době je vedeno mnoho studií na bezpečnost, účinnost a nové indikace psychedelik v rámci PAP neboli psychedeliky asistované psychoterapie. Psilocybin je v současné době nejvíce studovaným psychedelikem, které je slibnou látkou na doplňkovou léčbu generalizované úzkostné poruchy, OCD (obsedantně-kompulzivní poruchy), těžké deprese, PTSD, poruch nálad, léčbu bolesti a zánětu v rámci PAP.³ MDMA a LSD jsou ve většině zemí ilegální, avšak v Evropě, konkrétně v Nizozemsku (MAPS-Multidisciplinary Association for Psychedelic Studies) probíhají výzkumy MDMA asistované terapie na léčbu PTSD (posttraumatické stresové poruchy).⁸ U LSD byla zkoumána bezpečnost a účinnost v rámci asistované psychoterapie pro pacienty s úzkostí spojenou s život ohrožujícím onemocněním.⁹

V České republice byla v roce 2019 založena první psychedelická klinika v Evropě pod názvem Psyon, která se specializuje na psychedeliky asistovanou psychoterapii. Tato klinika nabízí ketaminem asistovanou psychoterapii (KAP) pro léčbu deprese, úzkostných

poruch, PTSD a poruch příjmu potravy. Zároveň nabízí psychiatrickou ambulantní péči a krátkodobou i dlouhodobou psychoterapii před nebo po KAP. ¹⁰ V současné době u nás probíhají výzkumy v NÚDZ (Národní Ústav Duševního Zdraví), zabývající se neurobiologií účinku a terapeutického využití psychedelik, konkrétně psilocybinu, LSD, meskalinu a dalších psychoaktivních látek a kannabinoidů. ¹¹

2. Cíle diplomové práce

- 1) Vypracovat podrobný přehled rostlin rodu *Banisteriopsis* s důrazem na jejich fytochemickou stránku.
- 2) Vytvořit přehled indolových alkaloidů, vyskytujících se v rodu *Banisteriopsis*.
- 3) Zaměřit se na biologickou aktivitu alkaloidů rodu *Banisteriopsis* a shrnout doposud zjištěné poznatky o rodu *Banisteriopsis*.

3. Čeleď Malpighiaceae

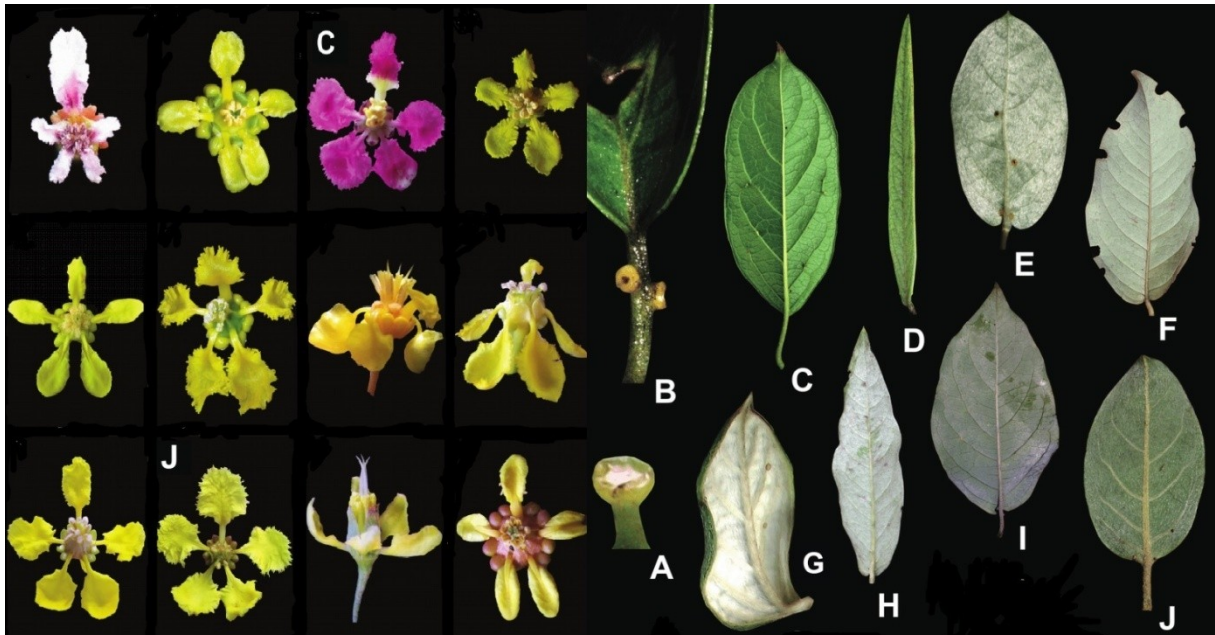
3.1 Popis a morfologické znaky rostlin čeledi Malpighiaceae

„Čeleď *Malpighiaceae* je jednou z nejrozmanitějších čeledí tropických a subtropických lián a keřů na světě.“¹² Čeleď *Malpighiaceae* zahrnuje celkem 81 rodů.¹³

Rostliny čeledi *Malpighiaceae* jsou stromy, keře, polokeře, nebo liány, které jsou rozšířeny v tropických a subtropických pralesích a savanách. Většinou je nacházíme ve Střední a Jižní Americe (cca z 85%) a z menší části v Africe a Asii (15%).¹⁴

Tato čeleď je snadno rozpoznatelná, díky typickému vzhledu květů, jednobuněčným trichomům, které mohou mít tvar písmene T, Y, nebo V, vzácně mohou být jehlicovité. Dále jsou identifikovatelné díky páru žláz vylučujících olej, umístěných na bázi každého kališního lístku.¹² Listy jsou jednoduché, vstřícné, celokrajné. Na listové čepeli, nebo řapíku se nacházejí žlázy. Jednotlivé rody můžeme vzájemně rozlišit na základě anatomických znaků listu. Lze hodnotit obrys řapíku, přítomnost, nebo nepřítomnost cévních svazků v řapíku a jeho postavení. Dále hodnotíme také tvar žláz a jejich rozmístění, přítomnost a tvar pochvy, nebo typ mezofylu.¹⁵ Palisty jsou epipetiolární, nebo interpetiolární, což znamená, že jsou lokalizované mezi řapíky protistojných listů.¹²

Květy jsou zygomorfnní, vzácně asymetrické, oboupohlavné. Jsou tvořeny pětičetným částečně, nebo zcela srostlým kalichem, běžně nesoucím na kališních lístcích žlázy. Okvětních lístků je 5, tvarem jsou výrazné, drápovité, střídající se s kališními lístky. Mohou nabývat barvy od bílé, až po růžovou, nebo mohou být žluté. Zadní okvětní lístek bývá odlišný od ostatních. Andreceum se skládá většinou z 10 tyčinek, nitky jsou krátké nebo dlouhé a jsou vždy přítomné. Gynoceum se skládá většinou ze tří plodolistů. Plody jsou velmi rozmanité a díky tomu poskytují důležité znaky pro rozpoznání rodů a k zařazení do podčeledí a kmenů.¹⁶ Plodem může být ořech, peckovice, nebo schizokarp s třemi merikarpy.^{12,17}



Obrázek 1: Zleva: Květy různých rodů v čeledi *Malpighiaceae*, (C) *B. muricata*, (J) *Diplopterys pubipetala*¹² a listy a žlázy různých druhů *Banisteriopsis*, (A)(C) *B. adenopoda*, (B) (I) *B. membranifolia*, (D) *B. angustifolia*, (E) *B. argyrophylla*, (F) *B. anisandra*, (G) *B. harley*, (H) *B. laevifolia*, (J) *B. parviglandula*¹⁵

3.2 Genus *Diplopterys* versus genus *Banisteriopsis*

Rody *Banisteriopsis* a *Diplopterys* jsou blízce příbuzné rody v rámci čeledi *Malpighiaceae*. Kdysi rod *Diplopterys* zahrnoval pouze čtyři druhy a od rodu *Banisteriopsis* se odlišoval převážně vlastnostmi plodu. Na druhou stranu rod *Banisteriopsis*, obsahující podrody, byl velmi rozsáhlý. Autoři *Anderson & Davis* v rámci molekulární a fylogenetické studie se kvůli tomu rozhodli, že některé druhy z podrodu *Pleiopterys* rodu *Banisteriopsis* budou zahrnuty do rodu *Diplopterys*, a tím se rod *Banisteriopsis* stane monofyletickým.^{18 19}

Z těchto důvodů byly do této práce zahrnuty dva významné druhy rodu *Diplopterys*, obsahující β -karbolinové alkaloidy, které původně patřily do rodu *Banisteriopsis*.

4. Rod *Banisteriopsis*

4.1 Charakteristika rodu *Banisteriopsis*

Název *Banisteriopsis* tento rod získal od anglického duchovního a přírodovědce Johna Banistera, který žil v 17. století.²⁰

Rod *Banisteriopsis* je považován za jeden z nejkompexnějších rodů v rámci čeledi *Malpighiaceae*. Rostliny tohoto rodu se řadí mezi krytosemenné rostliny, které patří do čeledi *Malpighiaceae* (*malpigiovité*) a do řádu *Malpighiales*. Nejméně polovina druhů jsou liány, mohou se však vyskytovat i jako keře a malé stromky.²¹

Rod zahrnuje 92 druhů²² a jeho doposud nejprozkoumanějším a nejcitovanějším druhem je *B. caapi*, častěji známá pod názvem ayahuaska. V běžné literatuře se tento termín používá pro označení liány i pro název psychotropního nápoje užívaného domorodými obyvateli původně pro rituální účely a jako součást lidového léčitelství.²³ Současně se používá k náboženským, duchovním a rekreačním účelům.⁶ I v České republice nacházíme stovky lidí, kteří se vydávají do Amazonie za účelem užívání tohoto psychotropního nápoje. Tento fenomén se nazývá šamanský turismus.²⁴

Alkaloidy se vyskytují v celé rostlině, avšak nejvyšší množství bylo nalezeno v sušené kůře velkých/starších větví.²² Jedná se především o alkaloidy indolového typu, prozatím ale nebylo provedeno dostatečné množství fytochemických studií, které by upřesnily sekundární metabolity nacházející se v této rostlině. Většina provedných studií se zaměřuje především na psychotropní nápoj a zbytek zůstává neprozkoumán.

Farmakologické studie prokázaly potenciál rostlin rodu *Banisteriopsis* pro různé biologické aktivity, jako je například antioxidační, antivirotická, antimikrobiální aktivita.²⁵ Dále inhibice MAO, AChE, BuChE, neuroprotektivní, antidepressivní, antitumorová, antiadiktivní a protizánětlivá aktivita.²⁶

4.2 Geografické rozšíření

Výskyt rodu *Banisteriopsis* je typický pro tropické a subtropické oblasti Jižní Ameriky v povodí řeky Amazonky a Orinoka, především v Brazílii, Peru, Ekvádoru, Kolumbii a v Bolívii (Obr. 2).^{22,27} Tento rod roste většinou v deštných pralesích, v subandském pralese, obvykle do nadmořské výšky 1000 m.²⁸



Obrázek 2: Výskyt rostlin rodu *Banisteriopsis* v Jižní a Střední Americe²⁹

4.3 Morfologické a taxonomické znaky

Rostliny rodu *Banisteriopsis* od sebe navzájem můžeme odlišit podle tvaru čepele, povrchu listu a rozmístění žláz na čepeli. Také rozlišujeme barvu květu, strukturu kůry, jak zvenčí, tak na příčném řezu.²¹ Podle Josiane Silva Araújo et. al. (2020) je rod *Banisteriopsis* od ostatních rodů snadno rozpoznatelný, díky extraflorálnímu nektáriu, nacházejícího se na listových čepelích. Tyto nektária neslouží k opylení, nýbrž k ochraně rostliny.¹⁵

Listy jsou na stonku protilehlé. Listová čepel je jednoduchá, vstříčná, řapíkatá, celokrajná se zpeřenou žilnatinou. Může mít povrch hladký, kožovitý až blanitý. Na listové

čepeli, nebo řapíku se nacházejí žlázy, jejichž počet, velikost a distribuce nám pomůže s diferenciací mezi druhy. Palisty jsou interpetiolární, obsahující 1-2 páry žláz. Kalich bývá pětičetný. Kališní lístky obsahují abaxiálně postavené žlázy. Okvětní lístky jsou zygomorfni, mohou být žluté, bílé až růžové. Andreceum obsahuje 10 tyčinek s heteromorfními prašníky. Plodem rodu *Banisteriopsis* je tvrdka, složená ze tří samar, což jsou křídlaté nažky, s dobře vyvinutými hřbetními křídly.^{12,18}

4.4 Užití v tradičním lidovém léčitelství

Rostliny rodu *Banisteriopsis* se v tradičním lidovém léčitelství používají hlavně jako surovina pro přípravu psychotropního nápoje ayahuaska. Dále např. *B. anisandra* se lidově používá jako zevní antimykotikum.³⁰

Mezi domorodými kulturami bylo užívání rostliny *Banisteriopsis caapi*, ve formě čajového nápoje Ayahuaska, běžné jako součást iniciačního rituálu pro přechod do dospělosti, za účelem duševní a fyzické očisty, stejně, jako za účelem zlepšení intuice a všímavosti (dnes by se dalo říct – *mindfulness*)^{31,32} Dále jí šamani používali pro komunikaci s duchy, magické zážitky a jako diagnostiku nemocí, nebo jako léčebný prostředek pro duševní a některá fyzická onemocnění.⁶ Ayahuaska jako tradiční medicína se užívá dodnes díky nově objeveným antidepressivním účinkům a k léčbě závislostí například v centru Takiwasi v Tarapotu (Peru), kde je kombinována s moderní psychoterapií.³³

4.5 Nápoj Ayahuasca

Etymologie slova *ayahuasca* pochází z kečuánských slov *aya*, což v překladu znamená duše, nebo smrt, a *hoasca* znamená liána. Ayahuasca, neboli liána smrti, či liána duše si vysloužila mnoho dalších označení, jako je *master plant*, nebo *teacher plant*. V Jižní Americe je tento nápoj také znám pod názvy Daime (Brazílie), Yajé (Kolumbie), Naté (Ekvádor), Vegetal (Brazílie).²⁷ Užívání tohoto psychotropního nápoje je amazonskou domorodou populací známo již více než 3000 let.⁶ Původně jí používali amazonští šamani, nazývaní *ayahuasqueros*, k rituálním a léčivým obřadům, které se postupně šířily do dalších částí Jižní Ameriky. Na počátku 30. let vznikla nejstarší brazilská synkretická církev Santo

Daime, která kombinuje domorodé a křesťanské tradice a jako svátost používá nápoj *Ayahuasca*. V dnešní době existují ještě další dvě brazilské církve, União do Vegetal (největší) a Barquinha (afro-brazilská), které se vyznačují pitím ayahuascy. Tyto tři církve jsou rozšířeny dnes po celém světě.⁶

4.5.1 Legalizace ayahuasky v ČR a ve světě

V posledních letech se objevil nárůst případů užívání ayahuasky, či pořádání ayahuaskových ceremonií na půdě ČR. V České republice není trestné pěstovat rostliny s obsahem β -karbolinových alkaloidů, ale i tak je ayahuasca nelegální nápoj, neboť obsahuje látku dimethyltryptamin, dále jako DMT, která je uvedena v příloze zákona o návykových látkách. Ustanovení § 283, odst. 1 trestního zákona říká: „*Kdo neoprávněně vyrobí, doveze, vyveze, proveze, nabídne, zprostředkuje, prodá nebo jinak jinému opatří nebo pro jiného přechovává omamnou nebo psychotropní látku, přípravek obsahující omamnou nebo psychotropní látku, prekursor nebo jed, bude potrestán odnětím svobody na jeden rok až pět let nebo peněžitým trestem.*“³⁴

V USA je legální pěstovat liánu *Banisteriopsis*, ilegálním je však uchovávání DMT a rostliny, které tuto látku obsahují. Je zakázán export a import těchto rostlin za účelem přípravy nápoje, kromě církvi Santo Daime a União do Vegetal (UDV), které jsou jediným legálním dovozcem a výrobcem ayahuasky.³⁵

Poté, co bylo v 80. letech užívání nápoje, tak pěstování rostlin za účelem přípravy nápoje ayahuasca shledáno nezákonným, došlo v Brazílii v roce 1992 k oficiální legalizaci *B. caapi*, *P. viridis* a nápoje ayahuasca pro náboženské účely. Naopak v Peru je ayahuaska zcela legální, je dokonce prohlášena za kulturní dědictví.^{35,36}

Doposud jediným místem v Evropě, kde se dá koupit a užít nápoj ayahuaska je Nizozemsko.³⁵

4.6 Příprava Ayahuascy tradičně a v klinických výzkumech

4.6.1 Tradiční příprava

Většinou se připravuje čajový nápoj z kůry větví liány *B. caapi*, nebo jiných rostlinných částí a rodů, jako jsou listy keře *P. viridis*, nebo listy keře *D. cabrerana* (*Malpighiaceae*).³⁷ Další přísady se mohou lišit podle tradičních zvyklostí každého *ayahuasquera* a regionu. V nápoji se mohou vyskytovat kávová zrna, jiné druhy *Banisteriopsis*, kakaové boby, kůra ze stromu, který liána popíná, aj.

Postup přípravy nápoje je následující: Nejdříve se silnější větve liány a listy *P. viridis* nebo jiného druhu omyjí ve vodě a následně se kůra liány se roztluče a střídavě se do kotlíku vrství s listy *P. viridis*. Poté se přidá voda, dokud se rostlinný materiál celý nezakryje a směs se vaří po dobu 8 hodin, vypařená voda se průběžně doplňuje (Obr. 3).²⁷



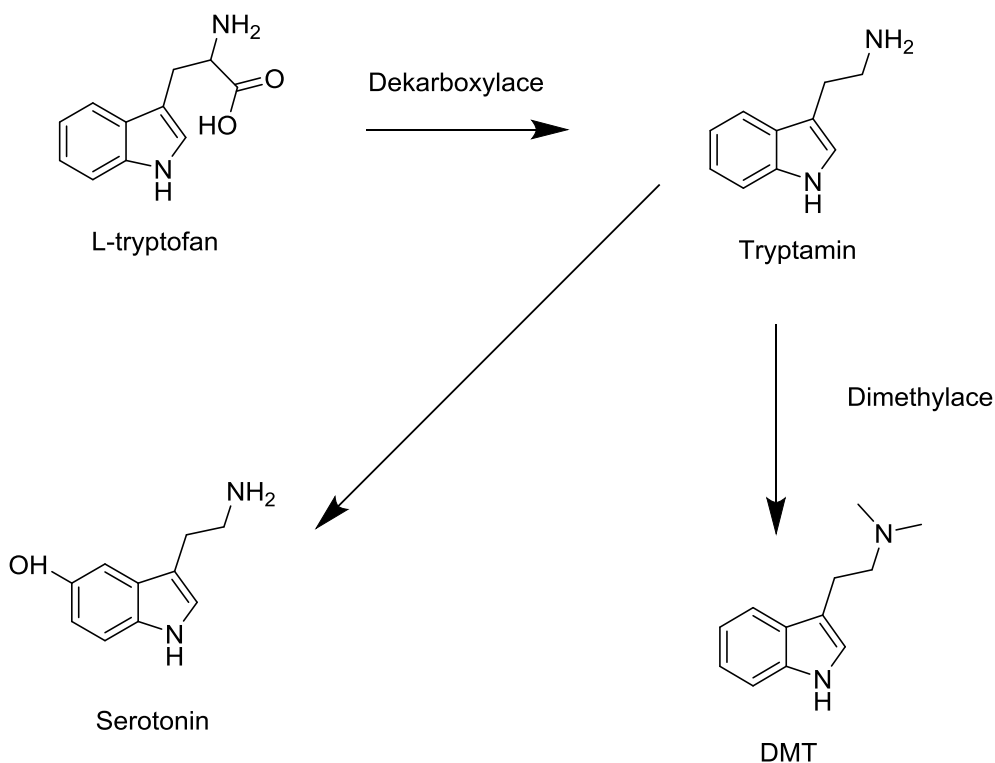
Obrázek 3: Příprava ayahuasky pro rituální účely³⁸

4.6.2 Příprava vodného extraktu v klinických výzkumech

Z různých částí čerstvých nebo usušených rostlin (list, kůra, mladé/starší stonky, velké větve) vytvoříme vodný extrakt, když sušený materiál rozemeleme, uprášujeme. Lze použít síťování k dosažení správné velikosti částic. Čerstvé části rostlin se nakrájí. Extrakt získáme extrakcí horkou destilovanou vodou. Po filtraci znovu rostlinný materiál ještě dvakrát extrahujeme. Vzniknou tak silně žluté zbarvené extrakty.³⁹

4.7 Mechanismus účinku nápoje Ayahuascy a projevy intoxikace

Zrakové a sluchové vize, intenzivní percepční, kognitivní, emocionální, afektivní změny a disociovaný stav během ceremonií, podobný užití diethylamidu kyseliny lysergové (LSD), způsobuje *N,N*-dimethyltryptamin (dále jen DMT). Díky své strukturní podobnosti s melatoninem a serotoninem (Obr. 4), působí v mozku na 5-HT_{1A/2A/2C} (serotoninové) receptory,^{40,41} a právě receptor 5-HT_{2A} hraje důležitou roli v mechanismu účinku halucinogenních drog.⁴² Avšak bez harmalových alkaloidů harminu a harmalinu, obsažených v *B. caapi*, by se DMT po orálním užití inaktivovalo ve střevech a játrech enzymem monoaminoxidasy-A/B. Harmin a harmalin působí jako inhibitory MAO-A/B, díky kterým se DMT dostane až do mozku. Samotné alkaloidy harmin a harmalin mají také halucinogenní účinky. Předpokládá se, že za to může být zodpovědná jejich inhibiční aktivita vůči MAO, díky které se zvyšují hladiny serotoninu v mozku a nebo také díky interakci s 5-HT, DA, BZD, imidazolinovými a opioidními receptory.^{40,43} Tetrahydroharmin působí jako slabý inhibitor zpětného vychytávání serotoninu, jako MAOi nepůsobí, ale psychedelický účinek podpoří.⁴⁰



Obrázek 4. Podobnost serotoninu a DMT a jejich biosyntéza z tryptofanu

Kromě halucinací, mezi další znaky intoxikace během ceremonie patří zvracení, průjem, nauzea, aj. Příčinou zvracení je zvýšení serotoninu v těle, který centrálně stimuluje nervus vagus. Průjem zase může být důsledkem nadměrné střevní stimulace serotoninem.⁶ Užití nápoje dále způsobuje motorickou ataxii, zmatenost, arteriální hypotenzi, nebo hypertenzi.⁴⁴ U hodnocení LD₅₀ (střední letální dávky) u DMT a harmalových alkaloidů na zvířatech se došlo k závěru, že letální dávka u člověka je až 20 násobek typické obřadní dávky ayahuasky. Nežádoucím účinkem se mohou stát přechodné psychotické epizody, které během několika hodin odezní. Riziko nežádoucích účinků se zvyšuje při současném užití serotonergní látky.⁴⁵

4.7.1 *Psychotria viridis* (Rubiaceae)

P. viridis (Obr. 5), běžně známá pod názvy „chacrona“, nebo „chacruna“ je stálezelený keř, který se přirozeně vyskytuje v rovinatém a vlhkém prostředí od severu Střední Ameriky, až po střední část Jižní Ameriky. Patří do čeledi Rubiaceae (mořenovitě).⁴⁶

Listy jsou sudozpeřené, vstřícné (křížmostojné), eliptického tvaru s lesklým povrchem, vycházející z dřevnaté lodyhy. Má zelenobílé květy a rostou na ni červené plody. Dosahuje výšky přibližně 2-3 metrů.⁴⁷



Obrázek 5: *Psychotria viridis* (Rubiaceae)²³

Nejvyšší obsah alkaloidů se nachází v listech. Obsah DMT ze sušených listů činí 0.1% až 0.66%.²³ Mezi další složky, které byly z listů získány, patří *N*-methyltryptamin, dlouhé řetězce uhlovodíků, β -sitosterol, stigmasterol, triacylglycerol, skvalen, kyselina ursolová, kys. oleánová, aj.³⁷ Biologická aktivita u *P.viridis* spočívá v inhibici acetylcholinestery, dále působí antiviroticky,²³ antioxidačně a má selektivní cytotoxický účinek, avšak na normální zdravé buňky nepůsobí.⁴⁶ Za látky, které jsou zodpovědné za tyto účinky, řadíme především indolové alkaloidy.

4.8 Fytochemicky významné rostliny rodu *Banisteriopsis*

4.8.1 *Banisteriopsis caapi* (Spruce ex Griseb.) Morton

Banisteriopsis caapi je z fytochemického hlediska nejvíce prostudovanou rostlinou rodu *Banisteriopsis*, která má geografické rozšíření v tropických oblastech zemí Jižní Ameriky, jako je Peru, Brazílie, Bolívie, Ekvádor, Venezuela, Kolumbie, severozápadní Argentina.²⁹ Ve vědeckých člancích se mohou objevit synonyma *B. caapi*, jako jsou *B. inebrans*, nebo *B. quitensis*.²³

Kůra, kde se nachází nejvíce alkaloidů je lysá, někdy laločnatá, stářím rozpukaná do mělkých korkových štěrbin, díky kterým můžeme na příčném řezu větve liány vidět typický tvar květiny, díky kterému je rostlina známá (Obr. 6). Uspořádání listů na stonku je vstřícné. Listová čepel je na horní ploše hladká a celokrajná s oválným tvarem. Žilnatina listu je zpeřená. Květy jsou tvořeny pěti bílými, až světle růžovými, okvětními lístky. Plodem je samarský ořech. Liána se rozmnožuje vegetativně pomocí semen vejířovitého tvaru, která stárnutím mění zelenou barvu za hnědou.²³

Liána může dorůst až do délky 30 metrů. V kůře velkých/starších větví je největší obsah alkaloidů.²² Harminu je v *B. caapi* 0.31 – 8.43%, harmalinu 0.03 – 0.83% a THH *B. caapi* obsahuje 0.05 - 2.94%.²³ V menším množství byl identifikován harmol, harmalol, norharman a nově objevený tetrahydronorharman, banistenosid A a jeho stereoizomer banistenosid B.^{26,39}

Další látky, které můžeme nalézt v *B.caapi* jsou proanthokyanidiny, pyrrolidiny, isoprenoidy, fenoly - katechiny, epikatechin, kyselina salicylová, kvercetin.⁴⁰

Jsou prozkoumány variety *B. caapi* a jejich obsah harmalových alkaloidů. Jedná se o variety, lidově označené jako tucunacá, amarelinho, ourinho a caupuri. Rozdíly v obsahu harmalových alkaloidů jednotlivých variet nejsou významné, nicméně uživatelé ayahuasky a *ayahuasqueros* popisují rozdílné subjektivní a fyziologické účinky u nápojů připravených z těchto různých variet.^{23,43}



Obrázek 6: Květ *Banisteriopsis caapi* a příčný řez větve liány^{49 50}

4.8.2 *Banisteriopsis laevifolia* (A.Juss.) B.Gates

Tento druh liány pochází z Bolívie a Brazílie. Ze systematického názvu lze vyvodit charakteristiku listu. „Laevis“ znamená hladký, lesklý a „folium“ je v latině výraz pro list.⁵¹ Stejně, jako u *B. caapi*, jsou listy jednoduché, vstřícné, řapíkaté, celokrajné se zpeřenou žilnatinou, a právě v listech bylo nalezeno velké množství látek, které vykazují antimikrobiální, antioxidační a antifungální aktivitu. Jedná se o flavonoidy, terpeny, fenoly, cukry, steroidy, triterpeny a sloučeniny taninu. V listech, však nebyly nalezeny žádné alkaloidy.⁵²

Tradičně se *B.laevifolia* používá, jako alternativa *B. caapi* u přípravy ayahuasky. Ve výzkumu *Nagamine-Pinheiro N et al.(2021)* zjistili, že větší množství harminu, harmalinu a THH bylo nalezeno v parenchymatických buňkách kůry *B.laevifolia*. Nebyl, bohužel uveden kvantitativní obsah těchto alkaloidů²¹

V kůře vytváří rýhy ve tvaru V, které lze vidět i na příčném řezu dřevnatého stonku (Obr. 7).²¹



Obrázek 7: Průřez větve²¹ a květ *B. laevifolia*⁵³

4.8.3 *Banisteriopsis muricata* (Cav.) Cuatrec.

Tato liána roste v oblastech od Mexika až po Argentinu. Je morfologicky příbuzná s *B. campestris*, lze ji však rozeznat podle růžových okvětních lístků, merikarpů a kombinace hřbetních listů.¹⁷

Kůra je z vnějšku hrubá, rýhovaná, s červenými lenticelami, avšak na řezu porózní, méně rýhovaná (Obr. 8). V kůře byla prokázána přítomnost tríslovin, fenolů, terpenoidů, lipidů, harmalových alkaloidů (harmin, harmalin, THH) a saponinů.²¹ Byla zjištěna přítomnost alkaloidů (+)-*N*-methyltetrahydroharminu a 5-methoxy-tetrahydroharminu

(5-MeO-THH), *N,N*-DMT, harmalinu, betainu a cholinu v listech *B. argentea*, která je synonymem pro *B. muricata*.²⁶

Kvete od ledna do března a plodí od února do května a srpna.¹⁷



Obrázek 8 Průřez stonku a květ *B. muricata*^{21,55}

4.8.4 *Banisteriopsis argentea* (Kunth) C. B. Rob.

Dle worldfloraonline.org, se jedná o synonymum *B. muricata* (Cav.) Cuatrec.¹³ Ve studii z roku 1971 jsou z listů a stonků *B. argentea* izolovány harmalové alkaloidy, konkrétně harmin, harmalin, THH, methyltetrahydroharman, methoxytetrahydroharman. Byl zde nalezen i betain, *N, N*-dimethyltryptamin a cholin.⁵⁴

4.8.5 *Banisteriopsis campestris* (A. Juss.) Little

Tento druh se vyskytuje pouze v Brazílii. Jedná se o vzpřímený keř, v jehož listech, kořenech a stoncích byly nalezeny biologicky aktivní esenciální oleje, které vykazují antioxidační, antimikrobiální, antiprotozoální aktivitu a schopnost inhibovat glykaci.^{17 56}

Listy jsou zde výjimečně křížmostojné, listová čepel je elipsovité s celistvým okrajem a 2 žlázami umístěnými na bázi listu. Palisty interpetiolární, trojúhelníkovité (Obr. 9).

Indolové alkaloidy nebyly v tomto rodu identifikovány



Obrázek 9: Květ a listy *B. campestris*¹⁷

4.8.6 *Banisteriopsis anisandra* (A. Juss) B. Gates

Tento druh se vyskytuje pouze v Brazílii. Od ostatních druhů se tato liána liší tím, že kvete v období sucha. Sběr květu se doporučuje v rozmezí srpna až října (Obr. 10).⁵⁷

Tradičně se tato rostlina využívá k lokální léčbě mykotických infekcí a i ve výzkumných studiích byla prokázána in vitro antimikrobiální aktivita ethanolickeho extraktu *B. anisandra* vůči *C. albicans*, *S. aureus* a *F. oxysporum*³⁰.

V extraktech z listů liány byla prokázána přítomnost alkaloidů, flavonoidů, taninů, katechinů, antrachinonů, terpenů a pyrrolů. Také stigmasterol, β -sitosterol a oleánová kyselina. U alkaloidů sice nebyla identifikována konkrétní struktura, ale byla prokázána inhibice acetylcholinesterasy (AChE) v MeOH extraktu a hexanovém extraktu resuspendovaném v ethyl-etheru.^{58 26}



Obrázek 10: Listy a květ *B. anisandra*^{59,60}

4.8.7 *Banisteriopsis oxyclada* (A.Juss.) B. Gates

Geografický výskyt této liány je hlavně v Brazílii, Bolívii a Paraguaji.⁶¹

Díky stříbřitým listům ze spodní strany, se této liáně lidově přezdívá „stříbrná réva“. Listy mají širší oválný tvar (Obr. 11). Extrakty z kořene, stonku a listů poukázaly na přítomnost flavonoidů, tríslovin, terpenů, saponinů, propylpropanoidů. Sloučeniny s heterocyklicky vázaným dusíkem nebyly v extraktech prokázány.¹⁶

Tento druh vykazuje široké spektrum biologické aktivity – antioxidační, potenciální antimikrobiální aktivitu vůči anaerobům, potenciální antifungální aktivitu vůči *C. albicans* a cytotoxickou aktivitu.¹⁶



Obrázek 11: Listy a květy *B. oxyclada*^{16,62}

4.8.8 *Diplopterys cabrerana* (Cuatrec.) B. Gates syn. *Banisteriopsis rusbyana* (Nied.) Morton

Tento druh, lidově nazývaný jako „*chaliponga*“, nebo „*chagropanga*“ se používá jako analog *P. viridis*, jelikož je zdrojem DMT. Ve studii z 60. let (Aguirell et al., 1968) byl z listů tohoto druhu, ještě pod názvem *B. rusbyana*, nalezen 5-methoxy-*N,N*-dimethyltryptamin, NMT, 5-hydroxy-*N,N*-dimethyltryptamin a MAOi *N*-methyltetrahydro- β -karbolin.²³

Geografický výskyt této liány je převážně na územích Brazílie, Kolumbie, Perú, Ekvádoru a Venezule.⁶³ Listy jsou eliptické, na bázi zkrácené, na vrcholu dlouze zašpičatělé. (Obr. 12)⁶³



Obrázek 12: *D. cabrerana* (*chaliponga*)⁶⁴

4.8.9 *Diplopterys pubipetala* (A.Juss.) W.R.Anderson & C.Davis, synonym *Banisteriopsis pubipetala* (A. Juss.) Cuatrec.

Liána, známá pod názvem „černá liána“ roste v tropických oblastech Brazílie a dále je rozšířená do zemí Bolívie, Kolumbie, Ekvádoru, Peru, Venezuely a Paraguaje.^{17,65} Původně jako *Banisteria pubipetala*, byla zařazena do rodu *Diplopterys*, avšak v novějších studiích se opět začala označovat pod názvem *Banisteriopsis pubipetala* (Obr. 13).⁶⁶

V extraktech z listů a stonku této liány byly prokázány flavonoidy, steroidy, alkaloidy, terpeny a saponiny. Množství těchto látek je větší v listech, než ve stonku.⁶⁵ První prokázaná přítomnost harmalových alkaloidů izolovaných z *D. pubipetala* je uvedena až ve studii z roku 2020. Pouze jeden vzorek *D. pubipetala* z pěti obsahoval β -karboliny (0,16 mg/g harmin, 0,046 mg/g harmalin a 1,04 mg/g THH).⁴³

Extrakty z listů vykazují silnou antioxidační aktivitu, dále jsou cytotoxické vůči 3T3 buňkám a snižují produkci prozánětlivých cytokinů (TNF- α a IL-6) a zároveň zvyšují produkci IL-10 a NO.⁶⁶



Obrázek 13: List a květ *D. pubipetala*¹⁷

4.8.10 *Banisteriopsis malifolia* (Ness & Mart.) B. Gates

Líána, rostoucí v Brazílii a Bolívii, je známá pod názvem „*flor-do-dia*“, nebo „*rama de moço*“ (Obr. 14). Tento druh není dostatečně fytochemicky zpracovaný. Existuje pouze studie o chemickém složení esenciálního oleje z listů *B. malifolia* a jeho biologické aktivitě v období dešťů a sucha. V této studii byla prokázána antimikrobiální aktivita, která, pro zajímavost, byla větší u vzorku esenciálního oleje z období dešťů. Tento vzorek obsahoval terpenoidy (hlavně fytol) a alifatické alkoholy.⁶⁷ Nebyly izolovány žádné indolové alkaloidy.



Obrázek 14: Květ a listy *B. malifolia* (Ness & Mart.) B. Gates⁶⁸

4.8.11 *Banisteriopsis argyrophylla* (A. Juss.) B. Gates

B. argyrophylla (Obr. 15), lidově známá jako „cipó-prata“, je významným zdrojem flavonoidů s antioxidační, antifungální a inhibiční aktivitou vůči α -amylase, α -glukosidase a pankreatické lipase. Je také inhibitorem neenzymové glykace.^{69,70} Ethanolický extrakt listů *B. argyrophylla* vykazuje antifungální aktivitu vůči *Candida spp.*⁷⁰

Z listů *B. argyrophylla* byly izolovány prokyanidiny a flavonoidy, konkrétně katechin, kaempferol, kvercetin, megastigman.⁶⁹

Zatím nejsou známé studie o izolaci a potvrzení indolových alkaloidů v rostlině.



Obrázek 15: Snímek *B. argyrophylla*⁷¹

5. Alkaloidy rodu *Banisteriopsis* a jejich biosyntéza

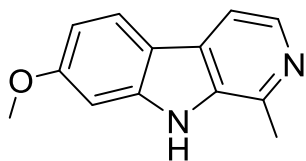
5.1 Přehled struktur alkaloidů izolovaných z rodu *Banisteriopsis*

V rostlinách rodu *Banisteriopsis* bylo nalezeno pouze 16 struktur. Některé fytochemicky významné druhy neobsahují alkaloidy žádné (Tabulka 1).

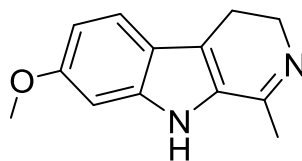
Tabulka 1: Alkaloidy vyskytující se v rostlinách rodu *Banisteriopsis*^{21,23,26,39,43}

		<i>B. caapi</i>	<i>B. laevifolia</i>	<i>B. muricata</i>	<i>B. campestris</i>	<i>B. anisandra</i>	<i>B. oxyclada</i>	<i>B. rusbyana</i>	<i>B. pubipetala</i>	<i>B. malifolia</i>	<i>B. argyrophylla</i>
	β-karbolinové alkaloidy										
1	Harmin	●	●	●					●		
2	Harmalin	●	●	●					●		
3	Tetrahydroharmin	●	●	●					●		
4	Harmol	●									
5	Harmalol	●									
6	Norharman	●									
7	Banistenosid A (alk.glykosid)	●									
8	Banistenosid B (alk. glykosid)	●									
9	Tetrahydronorharmin	●									
10	(+)- <i>N</i> -methyltetrahydroharminu			●							
11	5-methoxy-tetrahydroharminu			●							
12	<i>N</i> -methyltetrahydro β-karbolin							●			
	Tryptaminové alkaloidy										
13	<i>N, N</i> -dimethyltryptamin			●				●			
14	5-hydroxy- <i>N, N</i> -dimethyltryptamin							●			
15	<i>N</i> -methyltryptamin							●			
16	5-methoxy- <i>N, N</i> -dimethyltryptamin							●			

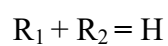
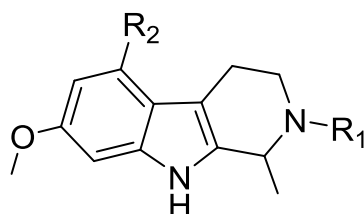
5.2 Struktury β -karbolinových alkaloidů



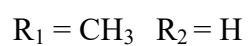
1 Harmin



2 Harmalin



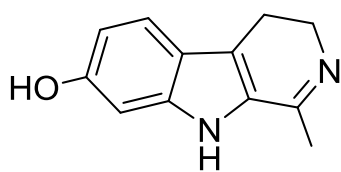
3 Tetrahydroharmin (THH)



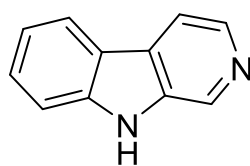
10 (+)-*N*-methyl tetrahydroharmin



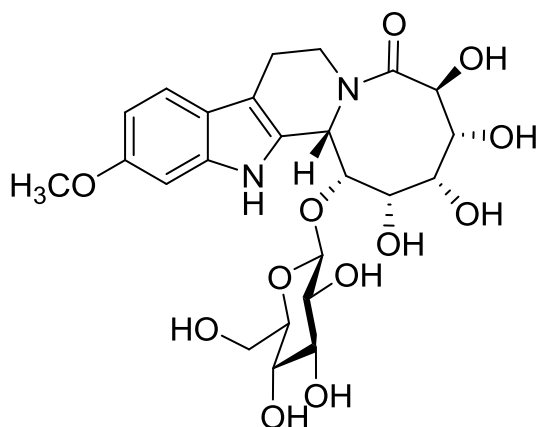
11 5-methoxy-tetrahydroharmin



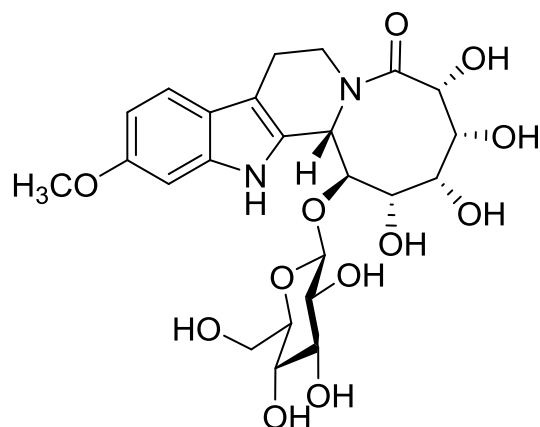
5 Harmalol



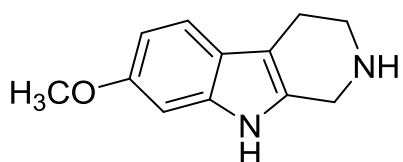
6 Norharman



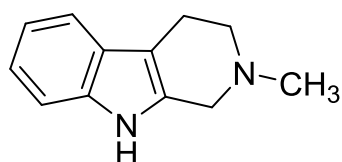
7 Banistenosid A



8 Banistenosid B

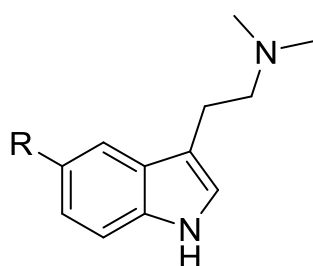


9 Tetrahydronorharmin (THNH)



12 *N*-methyl tetrahydro-β-karbolin

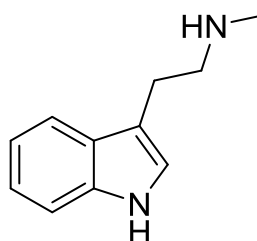
5.3 Struktury tryptaminových alkaloidů



13 $R = H$ *N,N*-dimethyltryptamin (DMT)

14 $R = OH$ 5-hydroxy-*N,N*-DMT

16 $R = OCH_3$ 5-methoxy-*N,N*-DMT



15 *N*-methyltryptamin

5.4 Indolové alkaloidy

Základ indolových alkaloidů tvoří indol, bicyklický kruh sestávající z benzenového jádra a pyrrolu. Výskyt indolových alkaloidů je mimo rod *Banisteriopsis* hojně zastoupen v čeledích *Apocynaceae* (toješťovitě), *Rubiaceae*, *Nyssaceae* (tupelovité) a *Loganiaceae* (logániovité). Tyto alkaloidy vykazují silnou protizánětlivou, antidepresivní, analgetickou, antitumorovou, antibakteriální, antivirotickou, antifungální, antidiabetickou aktivitu, aj.⁷²

5.4.1 β -karbolinové alkaloidy

β -karbolinové alkaloidy jsou občas označovány pod názvem harmalové alkaloidy. Je to z toho důvodu, že byly poprvé izolovány z rostliny *Peganum harmala* (*Zygophyllaceae*). Kromě čeledi *Malpighiaceae* a *Zygophyllaceae* se tyto alkaloidy nachází v čeledích *Apocynaceae*, *Rubiaceae*, *Eleagnaceae*, *Fabaceae* a *Passifloraceae*.⁷³

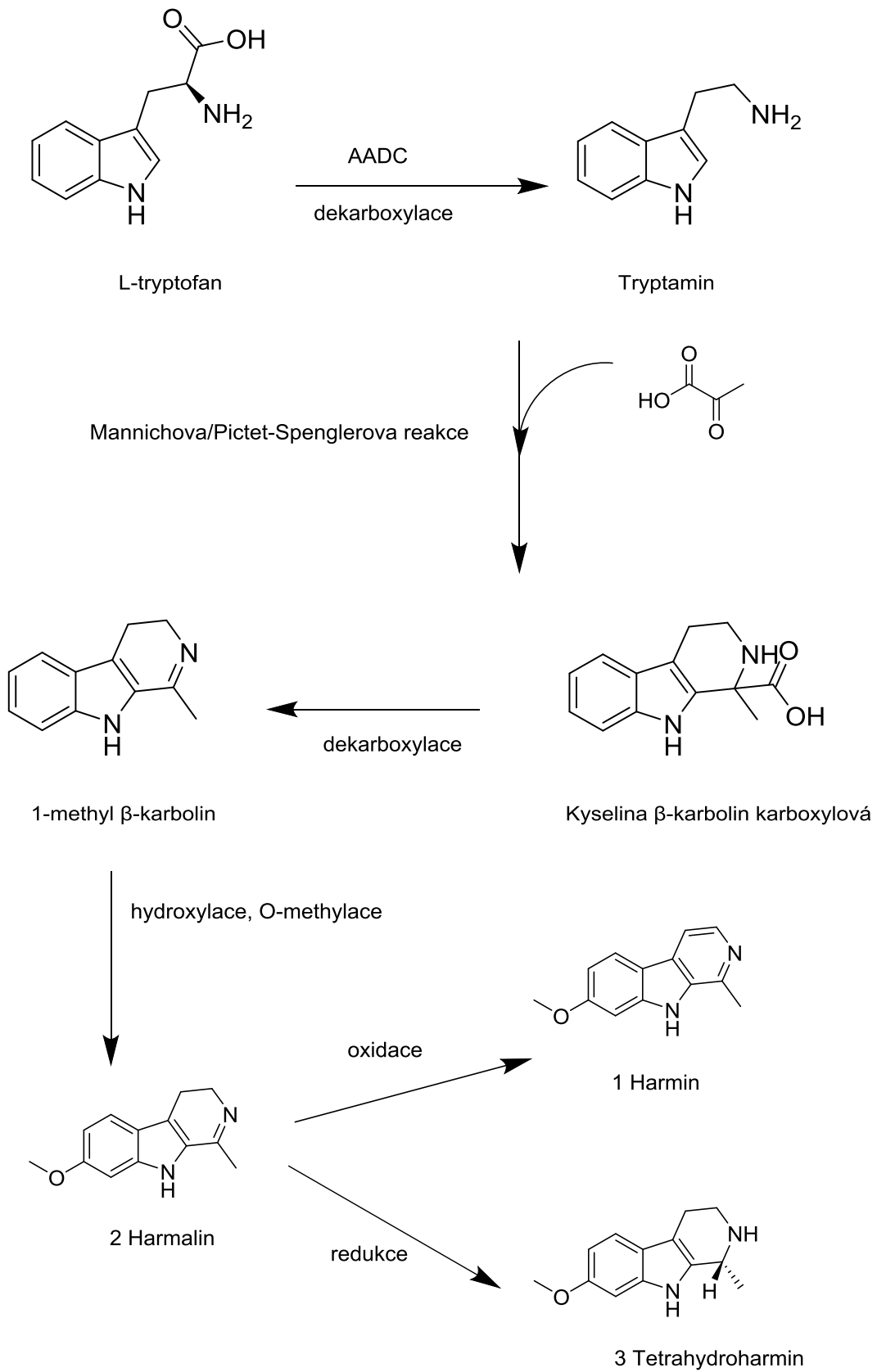
Rod *Banisteriopsis* obsahuje β -karbolinové alkaloidy, především harmin, harmalin a tetrahydroharmin (THH), které byly identifikovány v *B. caapi*, *B. laevifolia*, *B. muricata* a *B. rusbyana*. V *B. caapi* byly také nalezeny v menším množství harmol, harmalol, norharman a nově objevený tetrahydronorharman. Ve vodném extraktu kultivaru *B. caapi* *Da Vine* byly nově nalezeny alkaloidní glykosidy banistenosid A a jeho stereoizomer banistenosid B.^{26,39}

Kromě rostlin jsou tyto alkaloidy přítomny v cigaretovém kouři, grilovaném jídle, víně a také v lidských a zvířecích tkáních.⁷³ Pro zajímavost, harman a norharman se vyskytují v savčích tkáních, orgánech, tělesných tekutinách. Hladina harmanu je v mozku až 55× vyšší, než v krevní plazmě, kvůli jeho vysoké lipofilitě.²⁵

5.4.2 Biosyntéza β -karbolinových alkaloidů

Strukturně jsou harmalové alkaloidy výsledkem spojení indolového a pyridinového kruhu za vzniku β -karbolinového kruhu s postranními methylovými, nebo methoxy skupinami a s různým stupněm nasycení. Methoxysubstituce v indolovém systému harminu je zavedena v určité fázi dráhy postupnými hydroxylačními a methylačními reakcemi. Prekurzory biosyntézy jsou aminokyseliny L-tryptofan a L-methionin.⁷⁴ L-tryptofan je dekarboxylován za vzniku tryptaminu, dále kyselina pyrohroznová je pomocí Mannichovy/Pictet-Spenglerovy reakce začleněna do kruhu a vznikne tak β -karbolinkarboxylová kyselina. 1-methyl- β -karbolin se vytvoří oxidativní dekarboxylací, po které následuje hydroxylační a O-methylační reakce za vzniku harmalinu. Oxidací a redukcí pak dochází k tvorbě harminu nebo THH (Obr 16).⁷⁵

Ze struktury azepino[1,2-a]tetrahydro- β -karbolinu vychází banistenosid A a banistenosid B. Předpokládá se, že biosyntéza vzniká z indolového alkaloidu 3 α H strictosidinu, dále přes 3 α -H epoxystrictosidin a trioxoglykon, který následovně podléhá dekarboxylaci, cyklizaci, oxidaci, glykoxylicí až na banistenosid A.³⁹



Obrázek 16: Biosyntéza harmalových alkaloidů⁷⁵

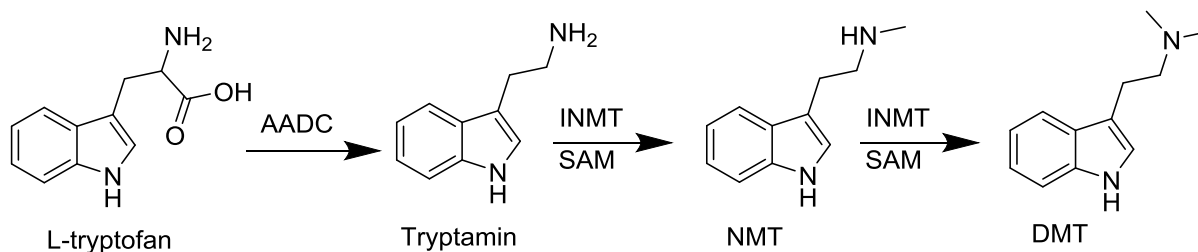
5.4.3 Tryptaminové alkaloidy

V listech *B. argentea* byl nalezen *N,N*-dimethyltryptamin (DMT). V *D. cabrerana*, (dříve označovaný jako *B. rusbyana*) bylo nalezeno 5-Methoxy-DMT, 5-hydroxy-DMT (bufotenin) a DMT a NMT.^{23,26}

Vysoká afinita tryptaminů k 5-HT receptorům plyne z jejich strukturní podobnosti se serotoninem. Tryptaminy primárně působí na serotoninové 5-HT_{2A} receptory, které jsou zodpovědné za halucinogenní účinky u lidí. U ostatních typů a subtypů receptorů tryptaminy vykazují rozdílné afinity.⁷⁶

5.4.4 Biosyntéza tryptaminových alkaloidů

Jedná se o indolové alkaloidy biosyntetizované z esenciální aminokyseliny tryptofanu, která se nachází běžně v rostlinách a některých zvířatech, ne však u člověka. Dekarboxylací tryptofanu pomocí enzymu dekarboxyláza aromatických kyselin (AADC) vzniká tryptamin. Poté dochází k transmethylační reakci enzymem indol-*N*-methyltransferasou (INMT), kdy methylovou skupinu získáme pomocí kofaktoru S-adenosyl-methioninu (SAM). Díky tomuto procesu vzniká *N*-methyltryptamin (NMT). Stejným krokem získáme DMT (Obr. 17).^{77,78} Hydroxylací tryptaminu v poloze 5 na indolovém kruhu vzniká 5-hydroxytryptamin (serotonin), který je široce distribuován v rostlinách, u savců plní funkci CNS neurotransmiteru.⁷⁸



Obrázek 17: Biosyntéza DMT⁷⁸

6. Biologická aktivita a klinické užití indolových alkaloidů rodu *Banisteriopsis*

6.1 Neuroprotektivní působení

6.1.1 Parkinsonova choroba

Parkinsonova choroba (PD) patří mezi druhé nejčastější progresivní degenerativní onemocnění mozku, které je způsobeno ztrátou neuronů v oblasti substantia nigra bazálních ganglií. Pokud dojde k poškození, nebo ztrátě těchto neuronů, dochází k postupné redukci dopaminu v této oblasti a ohroží se tím schopnost mozku ovládat pohyb.³⁹ Také dochází k vzniku takzvaných Lewyho tělísek, což jsou intracelulární seskupení narušující funkci neuronu, jejichž hlavní součástí je protein alfa-synuklein, ubikvitin a jiné proteiny.⁷⁹

První náznaky onemocnění nemusí být pro PD charakteristické, dochází k maskování se pod příznaky stárnutí, přepracovanosti, únavy, a proto bývá toto onemocnění poddiagnostikováno. Mezi časné příznaky se řadí poruchy spánku, deprese, známky apatie a podrážděnosti, může se objevit zácpa v důsledku zpomalené střevní činnosti, ztuhlost a bolest svalů, které mohou být podobné revmatickým onemocněním, zpomalený a omezený pohyb při chůzi, nebo běhu v různém rozsahu.⁸⁰ Typické příznaky, ke kterým dochází v pozdějších stádiích, klasifikujeme na motorické a nemotorické. Mezi motorické řadíme klidový třes (tremor), svalovou ztuhlost (rigidita), ztrátu schopnosti započítí pohybu (akineze), zpomalení pohybu, mimiky, řeči a jemné motoriky (bradykineze). Posturální nestabilita se může projevovat jak ve stoje, tak v chůzi.⁷⁹ Nemotorické příznaky se mohou projevit jako poruchy citlivosti, bolesti, jako poruchy spánku, či vegetativního mechanismu termoregulace, tlaku, aj. Zhoršení kognitivních funkcí, jako například snížení pozornosti, problémy s pamětí, uvažováním mohou progredovat až do demence.⁸⁰

Příčina onemocnění je idiopatická. V nedávných publikacích je uvedeno, že vystavení se toxinům z prostředí, návykovým látkám a stresu (volné radikály) napomáhá vzniku chronického zánětu v mozku, který vytváří buněčné stárnutí v neuronech.^{39,79}

Standardní farmakologická terapie nabízí zmírnění příznaků. Spočívá v tom, že se podává L-DOPA, která se v mozku přeměňuje na dopamin. Přes hematoencefalickou bariéru se však dostanou pouze 1-3 %, proto je k L-DOPĚ zvolena karbidopa nebo benserazid, což

jsou periferní inhibitory metabolismu L-DOPY. Nežádoucí účinky tohoto léčiva způsobují mimovolní pohyby a postupně dochází ke kolísání v klinické odpovědi.⁸¹ Mezi další farmakologické varianty patří agonisté dopaminu, MAO-B inhibitory, anticholinergní léčiva, NMDA inhibitory nebo COMTi.⁷⁹

6.1.2 MAO a její inhibitory

Stejně jako u enzymu COMT (catechol-O-methyltransferasa), funkcí enzymu MAO je katalyzovat degradaci biogenních aminů. Pomocí oxidativní deaminace vznikají aldehydy, které jsou dále metabolizovány pomocí enzymů aldehyddehydrogenasy, nebo aldehydreduktasy na sloučeniny typu glykolů a karboxylových kyselin. Konkrétně u DA tak vznikají neaktivní formy: kyselina 3,4-dihydroxyfenyloctová a 3,4-dihydroxyfenylalkohol. Výskyt MAO je ve většině savčích tkání, avšak vysoké hladiny exprese byly nalezeny v neuronálních, jaterních a gastrointestinálních tkáních.^{25,82} Abnormální funkce MAO vede ke vzniku reaktivních forem kyslíku (ROS), které mohou působit neurotoxicky. Tím by inhibice MAO mohla vést k ochraně před oxidativním stresem a vznikem neurotoxinů.⁸²

6.1.2.1 Harmin

Harmin, dříve známý pod názvy banisterin, nebo telepatin, má strukturní název 7-methoxy-1-methyl-9H-pyrido[3,4-b] indol. Jedná se o β -karbolinový alkaloid, který byl poprvé izolován z rostliny *P. harmala* (*Zygophyllaceae* – kacíbovité). Byl také identifikován v rostlině *Tribulus terrestris*, tabákových listech, v rostlinách rodu *Passifloraceae*.^{25,83,84} Farmakologické účinky jsou u harminu připisovány hlavně díky silné reverzibilní inhibici MAO-A. Harmin vykazuje slabší inhibiční efekt vůči MAO-B (až 10 000x slabší, Tabulka 2.) a je svým působením podobný spíše clorgylinu, než selegilinu (Tabulka 3).²⁶ Má afinitu k serotoninovým receptorům, antagonistické působení na NMDA receptoru a možné antioxidační a neuroprotektivní vlastnosti. Také zvyšuje eflux DA, jak *in vitro*, tak *in vivo* ve striatu.^{85,86 87}

Tabulka 2: Biologická aktivita β -karbolinových alkaloidů vyjádřená jako IC_{50} na rekombinantním humánním enzymu monoaminoxidasy A (MAO-A) a monoaminoxidasy B (MAO-B)³⁹

Alkaloidy	IC_{50} (nM)	IC_{50} (μ M)
	MAO-A	MAO-B
Harmin	2.0 – 5.0 ⁸⁸	20
Harmalin	2.5	25
THH	74	>100
Harmol	18	NT
Banistenoside A	4.9×10^3	>100
Banistenoside B	21.5×10^3	>100

NT – není testováno

Tabulka 3: Inhibice krysího jaterního enzymu MAO, referenčním činidlem jsou selegilin a clorgylin⁸⁵

	IC_{50} MAO-A	IC_{50} MAO-B
Clorgylin	6.6×10^{-10} M	$> 10^{-10}$ M
Selegilin	$> 10^{-6}$ M	4.97×10^{-9} M
Extrakt z liány <i>B. caapi</i>	1.24×10^{-8} g/ml	$> 10^{-5}$ g/ml
Harmin	4.54×10^{-9} M	$> 10^{-6}$ M

Neuroprotektivní účinky harminu jsou připisovány nejenom zvýšením hladin monoaminů díky inhibici MAO-A, ale také díky působení jako silný inhibitor AChE a DYRK kinas (Duálně specifické kinázy regulované fosforylací tyrosinu), konkrétně jako ATP kompetitivní inhibitor DYRK1A, která zvyšuje proliferaci hNPC (Human neural progenitors cells – lidské nervové progenitorové buňky) in vitro a hraje důležitou roli ve vývoji mozku.^{89,90} Harmin po akutním i chronickém podávání zvyšoval hladiny BDNF (brain-derived neurotrophic factor-mozkový neurotrofický faktor) v hippocampu (Tabulka 4).⁹¹

Tabulka 4: Přehled základních cílů působení harminu^{88,89}

Cíl inhibice nebo vazby	Harmin IC ₅₀ /k _i (nM)	Model	Působení
MAO-A	4.5 2.0 5.0	Kryší játra Rekombinantní lidská MAO Lidská játra	silná inhibice
DYRK1A*	80 33 700	Člověk Potkan Lidský H4 neurogliom	silná inhibice
5-HT _{2A}	230 397	Krysa Krysa	střední afinita
I ₂ R	630 10	Kryší kortex Kryší mozek	střední afinita
5-HT _{2C}	5340	Potkan	mírná afinita
DAT	12 000	Potkan (DAT uptake ve striatálních synaptosomech)	inhibice při vysokých koncentracích
AChE	9.05×10 ⁻³	<i>Electrophorus electricus</i> (paúhoř elektrický)	silná inhibice

6.1.2.2 Harmalin

Strukturní název harmalinu je 7-methoxy-3,4-dihydro-β-karbolin. Působí jako reverzibilní inhibitor MAO, AChE, BuChE. Působí na I₂, 5-HT receptory s afinitou sestupně 5-HT_{2A} > 5-HT_{2C} > 5-HT_{1A}. Nízkou afinitu má také k BZD a D₂.²³

Systémově podávaný harmalin vyvolává akutní a dočasný generalizovaný tremor u savců (8-16 Hz). Tento mechanismus je vysvětlen vazbou na MK-801, který otevírá Ca²⁺ kanály na NMDA receptoru. Touto zvýšenou excitací dojde k rytmické aktivaci Purkyňových buněk a navození tremoru.^{92,93}

6.1.3 Eflux DA ze striatálních buněk a inhibice MAO

Původně bylo myšleno, že uvolnění DA a zároveň zmírnění příznaků Parkinsonovy choroby je způsobeno mechanismem inhibice MAO-A. Tato izoforma MAO se neprokázala

jako účinná k navýšení DA ve striatu. Ve studii zkoumající inhibici MAO a uvolnění DA ze striatálních buněk u extraktu *B. caapi*, harminu a harmalinu se vyhodnotilo, že extrakt byl i přes nižší inhibiční aktivitu vůči MAO (oproti harminu) účinnější oproti ostatním alkaloidům ve nárůstu DA ve striatu. Důvodem může být synergické působení harmalových alkaloidů, účinek další neznámé látky obsažené v liáně, nebo ovlivnění jiným mechanismus (Tabulka 5).^{85,87}

Tabulka 5: Zvýšené uvolňování DA ve striatálních řezech krys⁸⁵

	Zvýšení vylučování DA u koncentrací
Extrakt <i>B. caapi</i>	2.5 mg/ml
Harmin	>200 μ M
Harmalin	5.83 – 58.3 μ M

Ve studii zkoumající efekt extraktu *B. caapi* a harminu, na motorický deficit u kosmana medikovaného MPTP (1-metyl-4-fenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridin), došlo k zjištění, že harmin je vhodný pro časnou chronickou monoterapii PD, ale pro pozdější stádia se nehodí. Společně s L-DOPA nebyl prokázán aditivní, nebo synergický účinek.⁸⁷

6.1.4 Alzheimerova choroba

Alzheimerova choroba se řadí vedle PD mezi další neurodegenerativní onemocnění, u kterých stále chybí vhodná léčba, která by vedla k celkovému vyléčení pacienta. Hlavními charakteristikami tohoto onemocnění je úbytek, nebo degradace acetylcholinu, oxidační stres a chronický zánět. β -karbolinové alkaloidy snižují hladiny fosforylovaných forem tau proteinu inhibicí DYRK1A kinasy, která zřejmě přispívá k dysfunkci tau proteinu (Tabulka 6).⁹⁴ Dále tyto alkaloidy vykazují silnou inhibiční aktivitu na AChE a BuChE. Kdysi byla vyžadována selektivní inhibice vůči AChE, jelikož periferní inhibice BuChE mohla vyvolat křeče, jako vedlejší účinek. Nicméně bylo zjištěno, že v posledních stádiích narůstá hladina BuChE a upouští se ze selektivního působení těchto léčiv (Tabulka 7).⁷³

Tabulka 6: Inhibice rekombinantního DYRK1A přímo katalyzující fosforylaci tau proteinu na H4 (lidských) buňkách neurogliomu s nadměrnou expresí 4R0N tau⁹⁴

	Harmin IC ₅₀ (μM)	Harmol IC ₅₀ (μM)	Harman IC ₅₀ (μM)	Norharman IC ₅₀ (μM)	Harmalin IC ₅₀ (μM)
Tau protein (serine 396)	0.7	0.09*	15	45	9

* Nejlepší hodnoty vykazoval harmol

Tabulka 7: IC₅₀ harmalových alkaloidů v porovnání s fysostigminem na enzimech AChE z *Electrophorus electricus* a BuChE z koňského séra⁷³

Alkaloidy	AChE IC ₅₀ (M)	BuChE IC ₅₀ (M)
Harmin DMSO/H ₂ O	4.60×10^{-4} (A)	2.78×10^{-4} (1)
Harmin HCl H ₂ O	1.01×10^{-4} (B)	2.51×10^{-4}
Harmin HCl DMSO/H ₂ O	4.14×10^{-4} (C)	3.58×10^{-4} (2)
Harmaline DMSO/H ₂ O	8.03×10^{-4}	1.23×10^{-3}
Harmaline HCl H ₂ O	3.05×10^{-4}	1.32×10^{-3}
Harmaline HCl DMSO/H ₂ O	9.15×10^{-4}	9.44×10^{-4}
Harmalol HCl H ₂ O	6.49×10^{-4}	6.65×10^{-5} (3)
Harmalol HCl DMSO/H ₂ O	9.84×10^{-4}	6.44×10^{-4}
Fysostigmin DMSO/H ₂ O	6.14×10^{-5}	4.34×10^{-4}
Fysostigmin salicylát H ₂ O	2.52×10^{-5}	4.19×10^{-5}
Fysostigmin salicylát DMSO/H ₂ O	8.50×10^{-5}	5.14×10^{-4}

Nejvyšší inhibiční aktivitu na AChE s použitím fysostigminu jako referenční látky měl harmin ve všech třech případech. Vykazoval ve srovnání s fysostigminem (A)13.34%, (B) 24.95% a (C) 20.53% aktivitu. V případě BuChE byl neaktivnějším alkaloidem ve vodném prostředí harmalol ve formě soli s aktivitou 63.00% (3). Harmin vykazoval aktivity (1) 156.12% a (2)143.58%.⁷³

6.1.5 Protizánětlivá aktivita

β-karbolinové alkaloidy působí protizánětlivě několika různými mechanismy. V experimentu s mikroglialními BV-2 buňkami, které, pokud jsou aktivované, vylučují

prozánětlivé cytokiny, bylo zjištěno, že extrakt *B. caapi* vykazoval při vysokých koncentracích cytotoxicitu vůči BV-2, v nízkých hladinách působil protizánětlivě, pravděpodobně supresí prozánětlivých cytokinů (Tabulka 8).⁹⁵ Harmin výrazně snižuje produkci TNF- α , NO a IL-6. IC₅₀ harminu v RAW264 myších buňkách (monocytové/makrofágové buňky) a lidských buňkách THP-1stimulovanými LPS (lipopolysacharidem) vykazovala hodnotu IC₅₀ 0.4 \pm 0.2 μ M.⁹⁶ LPS je endotoxin, který může způsobit v těle septickou reakci produkcí prozánětlivých cytokinů aktivovaných makrofágů (TNF- α , IL-1 β a IL-6).⁹⁷

Tabulka 8: Koncentrace β -karbolinů potřebná k supresi prozánětlivých cytokinů BV-2 mikroglialních buněk po 2 hodinách⁹⁵

	IL-2	IL-4	IL-6	IL-10	IL-17A	IFN-γ	TNF
Harmin (μM)	18.9 75.5	NV	NV	NV	NV	NV	18.9 – 75.5
Harmalin* (μM)	<2.4	18.7	37.4 (slabší suprese)	18.7	18.7 – 74.8	18.7 – 74.8	18.7 – 74.8
THH* (μM)	9.3 – 74.1	18.5* * 74.1	9.3 – 74.1	37.0 – 74.1 (slabší suprese)	18.5 – 74.1	9.3 – 74.1	9.3 – 74.1

NV: není významná suprese

* harmalin a THH vykazovali vyšší supresi cytokinů BV-2, na rozdíl od harminu

** u nižší koncentrace 2.3 μ M došlo k nárůstu počtu buněk

6.1.6 Antioxidační aktivita

Harmalin, harmalol a harman vykazují antioxidační aktivitu pomocí inhibice peroxidace lipidů v mikrozomech jater. In vitro studie prokázaly, že β -karbolinové alkaloidy se chovají jako „vychytávače“ volných radikálů. V in vivo studii, na prokázání antioxidační aktivity k ochraně kmenů *Sacharomyces cerevisiae*, byla zjištěna souvislost mezi strukturou, koncentrací a antioxidačním působením. Nejlepší aktivitu vykazoval harmalol > harmaline > harmol > harmane > harmine. Nahrazením hydroxylové skupiny

methoxylovou dojde k snížení antioxidačního účinku. To samé platí u dehydrogenace pyridolového kruhu.⁹⁸

6.2 Deprese

Deprese je psychické onemocnění řadící se mezi afektivní poruchy. Dle Světové zdravotnické organizace WHO, celosvětově 5 % dospělých jedinců trpí depresivní poruchou. Ženy jsou k tomuto onemocnění náchylnější než muži.⁹⁹

Na vzniku tohoto onemocnění se podílí řada vlivů. Určitou roli hrají genetické predispozice, hlavně u endogenní deprese. Dále se na vzniku podílí prostředí, psychologická zátěž, či jiná onemocnění.¹⁰⁰ Od monoaminové teorie, respektive nerovnováze v hladinách monoaminových neurotransmiterů a jejich funkcí, se pomalu upouští. Mezi spoustu dalších teorií patří receptorová serotoninová hypotéza, která zvažuje jako příčinu deprese abnormality na 5-HT receptorech (upregulace 5-HT₂, desenzitivace 5-HT_{1A}, abnormální převod signálu po vazbě 5-HT k receptoru).¹⁰¹

Příznaky lze rozdělit na somatické a psychické. Mezi psychické příznaky se řadí pocit smutku, apatie, podrážděnost, které má pacient každý den, po dobu minimálně dvou týdnů. Dále se může objevovat zhoršení koncentrace, neschopnost se radovat, pocit viny a beznaděje, únava, snížení libida, myšlenky na sebevraždu, aj. Mezi somatické příznaky patří bušení srdce, poruchy spánku, snížení chuti k jídlu, změna hmotnosti, sucho v ústech, bolesti hlavy a zad, atd.^{99,100}

Inhibitory MAO a TCA jsou považována za první generaci v léčbě deprese. Jedinou, dodnes používanou účinnou látkou je moklobemid - RIMA (reverzibilní inhibitor MAO), který se liší od ireverzibilních MAOi slabším účinkem, avšak lepším bezpečnostním profilem.⁸² Hlavním nepříznivým účinkem u MAOi je totiž riziko hypertenzní krize, která může být způsobena potravou, bohatou na tyramin.¹⁰² Harmin je reverzibilním inhibitorem MAO-A, ale zároveň interaguje s několika dalšími receptorovými systémy, například se 5-HT_{2A} receptory a má nejvyšší afinitu ze všech harmalových alkaloidů. Tato afinita klesá harmin > harmalin > THH > harmalol.²³

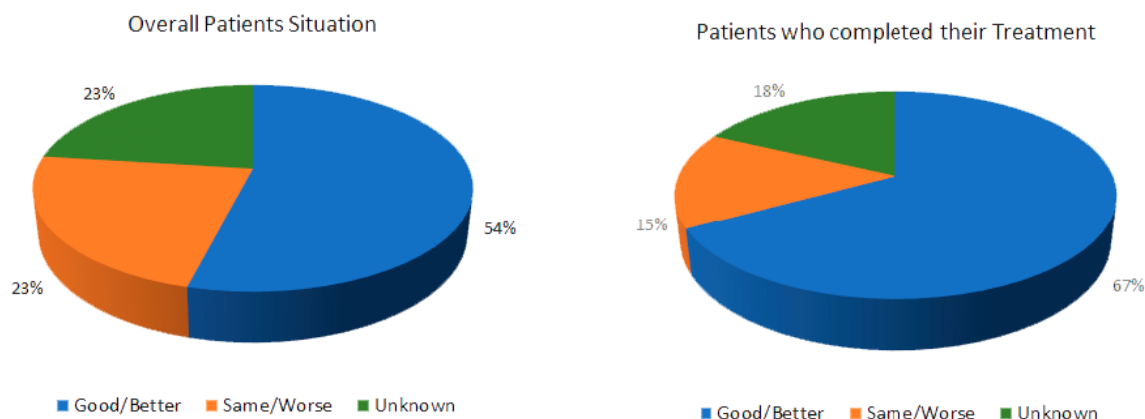
Bylo prokázáno, že harmin, THH, harmalin a metabolit harminu - harmol stimuluje u dospělých jedinců *in vitro* neurogenezi, která je spjatá s antidepresivním účinkem. Původně se za mechanismem neurogeneze považovala inhibice MAO a zvýšení hladin monoaminů. Nicméně v několika studiích vznikly pochybnosti o tomto mechanismu účinku. Zjistilo se, že i deficit serotoninu vyvolal neurogenezi v hippocampu. Navíc všechny čtyři harmalové alkaloidy (harmin, harmalin, THH a harmol) vykazovaly podobné výsledky v neurogenezi, i když jejich rozdíly v inhibici MAO se liší 100× až 1000×. Tím pádem se kromě jiných mechanismů, uvažuje o zprostředkování účinku neurogeneze pomocí inhibice DYRK1A kinasy. Jak již bylo zmíněno výše, harmin zvyšuje hladiny BDNF v hippocampu u myší. Nízké hladiny BDNF jsou úzce spojené s velkou depresí u lidí.^{91,103}

Další hypotézou pro rozvoj deprese je redukce hustoty astrocytů a snížení exprese jejich markerů. Harmin dokázal obnovit funkci astrocytárních buněk pomocí zvýšení hladin proteinové exprese glutamátového transportéru 1 (GLT-1) a zabránil redukcii exprese gliálního fibrilárního acidického proteinu (GFAP) v hippocampu a prefrontálním kortexu.¹⁰⁴

Chronické, přerušované podávání mikrodávek DMT (1 mg/kg) během 7 týdnů zlepšilo učení u hlodavců a došlo u nich i k vymizení strachu. Naopak tyto mikrodávky nevykazovaly aktivitu vůči úzkosti a neměly pozitivní efekt na krátkodobou paměť.¹⁰⁵

6.3 Antiadiktivní aktivita

Podávání nápoje ayahuasky se stalo terčem mnoha výzkumů závislostí. Zjistilo se, že tento nápoj má potencionální antiadiktivní působení vůči alkoholu, kokainu a opiátům.⁶ Možnými mechanismy působení harminu u drogových závislostí je inhibice MAO-A, DYRK1A, DAT a vazba na receptory 5-HT_{2A}, 5-HT_{2c} a I₂. Také DMT svým působením jako agonista 5-HT_{2A} snižuje hladiny a aktivitu DA v mezolimbických, nigrostriálních a mezokortikálních (odměňovacích) drahách a tím snižuje pocit odměny, který je spjatý se závislostí.⁶ Věnovat pozornost si zaslouží již zmíněné Takiwasi centrum, které se od roku 1992 komplexně zaměřuje na léčbu závislostí využitím nápoje ayahuaska a jiných amazonských rostlin, psychoterapie a ergoterapie v rámci kohabitace, kde tento léčebný model byl zkoumán ve více než 70 výzkumných pracích na poli medicíny, psychologie, psychiatrie, antropologie a etnologie.¹⁰⁶



Obrázek 18: Výsledky léčby závislostí v centru Takiwasi z roku 2002 a 2008¹⁰⁷ Graf vlevo se zaměřuje na úspěšnost všech pacientů. Zahrnuje do statistiky ty, co dokončili svůj léčebný pobyt a ty, co ukončili svůj pobyt v centru dříve, než po 1 měsíci Graf vpravo ukazuje úspěšnost všech pacientů, kteří dokončili celý léčebný pobyt

6.4 Antitumorová aktivita

Ze studií, vychází, že harmin je potencionální širokospektré protinádorové činidlo působící na několik druhů rakovinových buněk. Mezi mechanismy účinku patří jeho schopnost interkalace do DNA, inhibice topoizomerasy I, DYRK, CDK a haspinu, který podporuje angiogenezi v tumorech.⁸⁹ U harminu byla prokázána in vitro a in vivo protirakovinná aktivita proti TPC1-buněčné linii štítné žlázy (Tabulka 9).¹⁰⁸

Tabulka 9: Souhrn studií, zabývajících se antitumorovou aktivitou harminu⁸⁹

Buněčné tumorové linie	Antitumorová aktivita =>	IC ₅₀ (μM)				
		12 h	24 h	36 h	48 h	72 h
Žaludek	BGC-823 SGC-7901		93.43±6.12		25.58±3.20	17.10±2.54
			14.52±0.89		4.68±0.47	2.92±0.34
Žaludek	MGC-803 SGC-7901		58.84±11.34		19.97±3.98	7.50±1.64
			40.94±5.65		12.29±2.49	1.77±0.55
Žaludek	MGC-803		63.38±7.80		32.71±6.11	14.89±1.01

Plíce	MRC-5 A549 H460 PC9				>50 10.11 19.45 32.74	
Játra	HepG2				46.17	
Játra	Hep3B HuH7	40.26 ± 5.46 54.35 ± 18.31	27.09±5.11 43.82±2.93		15.74±0.95 19.50±0.70	
Střevo	SW620				24.17	
Štítná žláza	TPC-1		78.07±6.60	44.66± 5.18	25.96±3.30	
Slinivka	PANC-1 BxPC-3 CFPAC-1 SW1900		15.58±1.04 41.95±3.39 36.00±0.96 31.78±2.03		9.29±0.42 19.2±0.54 12.35±1.39 11.53±0.47	5.40±0.14 13.67±0.64 7.44±0.96 8.24±0.52
Glioblastom	C6 U87 U373		37.5 47.3 44.7		22.9 26.2 27.2	
Neuroblastom	SKNBE KELLY SKNAS SKNFI		558.7±1.10 3395±7.90 635.6±0.70 2696±4.40		224.8±0.16 238.7±0.13 NI* NI	169.6±0.10 170.8±0.10 NI 791.7±0.77

* NI – nedošlo k inhibici

6.5 Antiparazitární působení

Harmin působí různými mechanismy na parazity. Inhibuje replikaci a napadení u *T. gondii*, vůči *P. falciparum* harmin inhibuje heat shock protein 90 přes ATP vazbu. Harmalin se prokázal jako účinný proti parazitickým prvokům Leishmaniím (Tabulka 10).⁸⁹

Tabulka 10: IC₅₀ β-karbolinů vůči *Toxoplasma gondii*, *Plasmodium falciparum*, *Leishmania infantum* a *Trichomonas gallinae*^{89,109,110}

	Harmin (μM)	Harmalin (μM)	Norharman (μM)	Harman (μM)
<i>T. gondii</i>	<40*	NT	<40	<40
<i>P. falciparum</i>	37.69	117.14	NT	NT
<i>L. infantum</i>	NT	1.16	NT	NT
<i>T. gallinae</i>	141.34	466.72	NT	NT

NT – netestováno

* nejvyšší účinnost na *T. gondii* měl harmin

6.6 Antiagregační aktivita

β -Karbolinové alkaloidy izolované z *P. harmala*, konkrétně harmin, harman a harmol, vykazovaly *in vitro* antiagregační aktivitu v promytých králičích trombocytech (Tabulka 11). Působí jako selektivní inhibitory kolagenem aktivovaných destiček.¹¹¹ Tato aktivita nebyla zkoumána u harmalových alkaloidů rodu *Banisteriopsis*. Jednalo by se o zajímavý podnět k dalšímu výzkumu.

Tabulka 11: Inhibice agregace králičích krevních destiček¹¹¹

Alkaloidy	IC ₅₀ (μM)
Harman	113.7 ± 8.4
Harmin	132.9 ± 16.6
Harmol	200 ± 4.6
Harmalin	>200
Norharman	>200
Harmalol	>200

6.7 Antimikrobiální aktivita

V experimentu s několika typy odvarů ayahuasky (samotná *B. caapi*, nebo společně s *P. viridis*, nebo *M. hostilis*) vůči čtyřem Gram pozitivním a čtyřem Gram negativním bakteriím se zjistila významná antimikrobiální aktivita u samotného odvaru *B. caapi* (Tabulka 12). Tato aktivita se převážně připisovala obsahu flavonoidů a flavanolů ((+)-katechin, (-)-epicatechin, aj.) v rostlině.⁴⁰

Nicméně v dřívějším výzkumu bylo poukázáno na antimikrobiální *in vitro* působení β -karbolinů. Největší antimikrobiální aktivita vyšla u harminu, kdy všechny bakterie byly v koncentračním rozmezí 100-500 μg/ml harminem inhibovány. Vyjímkou však byly *S. faecalis*, *V. cholerae*, *S. pyogenes* a *S. schottmuelleri* (Tabulka 13 a 14). Tato aktivita klesala: harmin>harmol>harmalin>harmalol=tetrahydroharmin=tetrahydroharmol.¹¹²

Tabulka 12: MIC (mg/mL) vzorků obsahujících *B. caapi*⁴⁰

Bakterie	<i>B. caapi</i> MIC (mg/mL)	<i>B. caapi</i> + <i>P. viridis</i> MIC (mg/mL)	<i>B. caapi</i> + <i>M. hostilis</i> MIC (mg/mL)
<i>S. aureus</i>	1.25	>10	>10
<i>L. monocytogenes</i>	2.5	10	>10
<i>E. faecalis</i>	10	>10	>10
<i>B. cereus</i>	0.313	2.5	2.5
<i>E. coli</i>	2.5	10	5
<i>S. typhimuri</i>	2.5	10	10
<i>P. aeruginosa</i>	5	10	5
<i>A. baumannii</i>	0.625	2.5	1.25

- Směs *B. caapi* a *P. viridis* nebyly schopny inhibovat růst *E. coli*, *E. faecalis*, *S. typhimurium* a *L. monocytogenes*.

Tabulka 13: MIC (µg/ml) β-karbolinových alkaloidů proti G+ bakteriím, gentamicin jako kontrola¹¹²

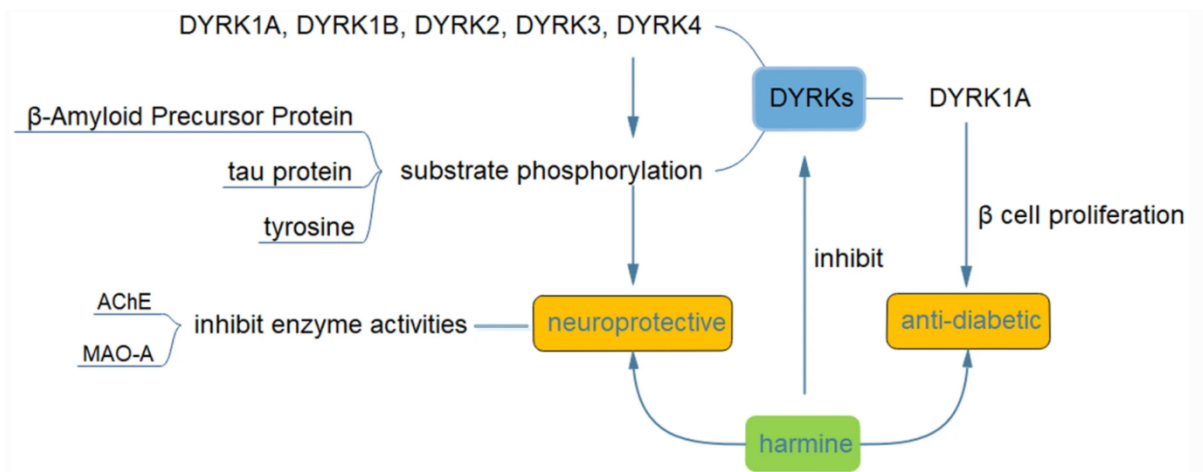
G+ bakterie	Harmin	Harmalin	Harmol	Harmalol	Tetrahydr oharmin	Tetrahydr oharmol	Gentamicin
<i>B. pumilus</i>	100	250	250	>500	500	>500	0.05
<i>B. subtilis</i>	100	250	250	>500	500	>500	0.01
<i>C. hofmannii</i>	100	100	250	>500	>500	>500	0.05
<i>C. xerosis</i>	250	250	500	500	>500	>500	0.1
<i>S. lutea</i>	100	100	100	500	>500	>500	0.05
<i>S. aureus</i>	300	500	250	>500	>500	>500	0.5
<i>S. citreus</i>	100	300	200	500	500	500	0.01
<i>S. epidermidis</i>	200	300	250	>500	>500	>500	0.5
<i>S. faecalis</i>	>500	500	>500	>500	>500	>500	10
<i>S. lactis</i>	100	250	250	>500	>500	>500	0.01
<i>S. pyogenes</i>	>500	500	250	>500	>500	>500	1

Tabulka 14: MIC ($\mu\text{g/ml}$) β -karbolinových alkaloidů proti G- bakteriím, gentamicin jako kontrola¹¹²

G- bakterie	Harmin	Harmalin	Harmol	Harmalol	Tetrahydroarmin	Tetrahydroarmol	Gentamicin
<i>A. hydrophila</i>	100	250	250	>500	>500	>500	5
<i>E. coli</i>	300	500	500	500	>500	>500	1
<i>K. pneumoniae</i>	200	500	500	>500	>500	>500	1.5
<i>P. vulgaris</i>	250	500	250	>500	>500	>500	4
<i>P. aeruginosa</i>	500	>500	>500	>500	>500	>500	10
<i>S. paratyphi A</i>	100	250	250	500	>500	>500	0.5
<i>S. schottmuelleri</i>	>500	>500	>500	>500	>500	500	1.5
<i>S. marcesens</i>	200	500	500	>500	>500	>500	2.5
<i>Sh. dysenteriae</i>	250	500	250	>500	>500	>500	5
<i>Sh. flexneri</i>	200	500	250	>500	>500	>500	0.5
<i>Sh. Sonnei</i>	250	500	250	>500	500	>500	0.5
<i>V. cholerae</i>	>500	500	250	500	>500	>500	1

6.8 Antidiabetická aktivita

Působením na DYRK1A kinasu, harmin vykazuje nejenom neuroprotektivní aktivitu, ale i antidiabetickou. Inhibicí DYRK1A dochází také k proliferaci β -buněk v pankreatu, což je zajímavý mechanismus, který by mohl být potencionálně vhodným terapeutickým přístupem u moderních antidiabetik. Harmin zvyšuje hmotu Langerhansových ostrůvků, je agonistou PPAR- γ receptorů a zprostředkovává adipogenezu a zvětšenou citlivost a zničení glukózy u db/db myši (speciálně upravené myši s diabetem typu II., chronickou hyperglykemií, morbidní obezitou, atrofií β -buněk a hypoinzulinémií).^{89,113}



Obrázek 19: Schéma mechanismu neuroprotektivního a antidiabetického účinku harminu ⁸⁹

7. Závěr

V této rešeršní diplomové práci jsem si stanovila za jeden z cílů vypracovat přehled fytochemicky významných rostlin rodu *Banisteriopsis*. Zahrnula jsem zde i dva druhy z rodu *Diplopterys*, které kdysi patřily pod rod *Banisteriopsis* a obsahují β -karbolinové alkaloidy. Do dnešního dne bylo fytochemicky zpracováno celkem 10 druhů. Konkrétně se jedná o *B. caapi*, *B. laevifolia*, *B. muricata* (a jeho synonymum *B. argentea*), *B. campestris*, *B. anisandra*, *B. oxyclada*, *D. cabrerana* (syn. *B. rusbyana*), *D. pubipetala* (synonymum *B. pubipetala*), *B. malifolia* a *B. argyrophylla*. Kvůli nedostatku taxonomických, botanických a v některých případech i fytochemických informací méně známých druhů, jsem čerpala i z vědeckých prací psaných ve španělštině a portugalskéštině.

Dalším cílem bylo vypracovat přehled indolových alkaloidů vyskytujících se v rostlinách rodu *Banisteriopsis*. V současné době bylo, dle dostupných informací, z rodu *Banisteriopsis* izolováno 14 alkaloidů a 2 alkaloidní glykosidy. Výskyt těchto alkaloidů byl převážně v kůře a kvantitativně nejvíc jich bylo v kůře větších/starších větví. Některé druhy sice neobsahovaly žádné alkaloidy, ale důvodem mohlo být, že se fytochemické studie zaměřovaly pouze na látky obsažené v listech, nebo ve žlázkách a nebyla dostatečně fytochemicky prozkoumána kůra. Množství izolovaných alkaloidů se může jevit jako malé, ale zato tyto alkaloidy vykazují zajímavé biologické aktivity. Zatím nejprozkoumanější biologickou aktivitou těchto alkaloidů je neuroprotektce. Dále je významná antidepressivní, antioxidační a protizánětlivá aktivita, inhibiční působení na enzym MAO a receptory serotoninového typu. Některé biologické aktivity, v této práci, se vztahují k harmalovým alkaloidům izolovaných z *P. harmala* (*Zygophyllaceae*), např. aktivita antitumorová, antiagregační, antiparazitární, aj. Jsou zde zmíněné, kvůli nedostatku experimentálních dat o těchto biologických aktivitách u β karbolinových alkaloidů z rodu *Banisteriopsis*. Nicméně strukturně se jedná o ty samé látky, které můžeme najít i v rodu *Banisteriopsis*.

β -karbolinové alkaloidy působí neuroprotektivně díky několika mechanismům: jako inhibitory MAO, AChE, DYRK1A, také jako induktory neurogeneze a NMDA antagonisté. Na uvolňování DA ze striatu měl významně vyšší aktivitu samotný extrakt *B. caapi* oproti harminu a harmalinu, i když měl nižší inhibici vůči MAO. Pro léčbu by mohl být harmin používán v chronické monoterapii v raných fázích PD.

Největší inhibiční aktivitu vůči MAO-A vykazoval v tomto pořadí harmin \geq harmalin $>$ harmol $>$ THH. Na enzym MAO-B harmin s harmalinem působily podobným, avšak slabším inhibičním efektem, než u MAO-A. Dále β -karbolinové alkaloidy působí jako inhibitory AChE a BuChE. Harmin vykazoval u inhibice AChE i BuChE nejlepší aktivitu vůči ostatním harmalovým alkaloidům. Proti AChE: Harmin ($IC_{50}=4.60 \times 10^{-4}$ M v DMSO/H₂O), harmin ve formě soli ($IC_{50}=1.01 \times 10^{-4}$ M v H₂O) a harmin ve formě soli ($IC_{50}=4.14 \times 10^{-4}$ M v DMSO/H₂O). Proti BuChE harmin vykazoval největší aktivitu v roztoku DMSO/H₂O ($IC_{50}=2.78 \times 10^{-4}$ M) a jako sůl v roztoku DMSO/H₂O ($IC_{50}=3.58 \times 10^{-4}$ M). Ve vodném prostředí vykazoval největší inhibiční aktivitu proti BuChE harmalol ($IC_{50}=6.49 \times 10^{-4}$ M).

V léčbě deprese a závislosti jsou zkoumány účinky nápoje ayahuasky, samotného DMT a β -karbolinů. Existuje několik experimentálních center zabývajících se využitím těchto látek v praxi. Antimikrobiální aktivita se prokázala u extraktu *B. caapi* i jednotlivých harmalových alkaloidů.

Harmin, působením na enzym DYRK1A a dalšími mechanismy, vykazuje antidiabetickou aktivitu zajímavou pro další výzkum nových antidiabetik. Byla popsána antitumorová, antiparazitární a antiagregační aktivita harmalových alkaloidů izolovaných z *P. harmala*. Tyto aktivity jsou zde uvedeny jako podnět k dalšímu možnému výzkumu harmalových a dalších indolových alkaloidů rodu *Banisteriopsis*.

8. Literatura

1. Reiff C. M., Richman E. E., Nemeroff C. B., et al. Psychedelics and Psychedelic-Assisted Psychotherapy. *Am. J. Psychiatry*. May 1 2020;177(5):391-410.
2. Pilecki B., Luoma J., Bathje G., Rhea J., Narloch V. Ethical and legal issues in psychedelic harm reduction and integration therapy. *Harm. Reduc. J.* 12/01 2021;18
3. Lowe H., Toyang N., Steele B., et al. Psychedelics: Alternative and Potential Therapeutic Options for Treating Mood and Anxiety Disorders. *Molecules*. 2022;27(8):2520.
4. Kočárová R. Česká psychedelická republika. Staženo 04.04.2022, <https://czeps.org/ceska-psychedelicka-republika/>
5. Tupá T. *Stanislav Grof - výrazná osobnost současné psychologie*. Západočeská univerzita v Plzni; 2016. <https://dspace5.zcu.cz/bitstream/11025/24714/1/DP.pdf>
6. Hamill J., Hallak J., Dursun S. M., Baker G. Ayahuasca: Psychological and Physiologic Effects, Pharmacology and Potential Uses in Addiction and Mental Illness. *Curr. Neuropharmacol.* 2019;17(2):108-128.
7. Kočárová R., Bláhová B., Postránecká Z., Klobušníková K. Národní psychedelický výzkum. 2021. Staženo 04.03.2022, https://www.drogy.info.cz/data/obj_files/33509/1104/Zaostreno%202021-02%20Narodni%20psychedelicky%20vyzkum_v20210809.pdf
8. Participate in MDMA Studies. Staženo 03.05.2022, <https://mapseurope.eu/#mdmathrapy>
9. Gasser P., Kirchner K., Passie T. LSD-assisted psychotherapy for anxiety associated with a life-threatening disease: a qualitative study of acute and sustained subjective effects. *J. Psychopharmacol.* Jan 2015;29(1):57-68.
10. Psychedelická klinika. Staženo 04.04.2022, <https://www.psyon.cz/klinika/>
11. CV psychedelik. Staženo 03.05.2022, <https://www.nudz.cz/vyzkumne-programy/cv-psychedelik/profil/>
12. de Almeida R., Francener A., Amorim A. A generic synopsis of Malpighiaceae Juss. in the Atlantic Forest. *Nord. J. Bot.* 03/01 2016;34:1-17.
13. The plant list. Staženo 01.03.2022, <http://www.plantlist.org/>
14. Davis C. Laurasian migration explains Gondwanan disjuncts: evidence from Malpighiaceae. *PNAS*. 01/01 2002;
15. Araújo J., de Almeida R., Meira R. M. Taxonomic relevance of leaf anatomy in *Banisteriopsis* C.B. Rob. (Malpighiaceae). *Acta Bot. Bras.* 03/01 2020;34:214-228.

16. Martins M. M. *Estudo fitoquímico e atividades antioxidante, antimicrobiana, antiprotozoária e citotóxica da espécie: Banisteriopsis oxyclada (A. Juss.) B. Gates*. Universidade de Federal Uberlândia; 2018.
<https://repositorio.ufu.br/bitstream/123456789/20854/3/Estudofitoqu%C3%ADmicoeatividades.pdf>
17. Pacifico R., de Almeida R. Malpighiaceae Juss. in the Upper Paraná River Floodplain, States of Paraná and Mato Grosso do Sul, Brazil. *Hoehnea*. 11/06 2020;47
18. Souto L., Oliveira D. Pericarp structure in Banisteriopsis C.B.Rob. and Diplopterys A.Juss. (Malpighiaceae): New data supporting generic segregation. *Acta Bot. Bras.* 09/01 2012;26:527-536.
19. Anderson W. R., Davis C. C. Expansion of *Diplopterys* at the expense of *Banisteriopsis* (Malpighiaceae) *HPB*. 2006;11(1):1-16.
20. Plants J. G. Banister, John (1650-1692). JSTOR. Staženo 21.01.2022,
<https://plants.jstor.org/stable/history/10.5555/al.ap.person.bm000392447>
21. Nagamine-Pinheiro N, Fagg CW, Gomes SM, Oliveira RC, Sonsin-Oliveira J. Vegetative anatomy, morphology and histochemistry of three species of Malpighiaceae used in analogues of the Amazonian psychoactive beverage Ayahuasca. *Flora*. 2021/02/01/ 2021;275:151760.
22. Wang Y. H, Samoylenko V., Tekwani B. L., et al. Composition, standardization and chemical profiling of Banisteriopsis caapi, a plant for the treatment of neurodegenerative disorders relevant to Parkinson's disease. *J. Ethnopharmacol.* Apr 21 2010;128(3):662-71.
23. Riba J., Valle M., Urbano G., Yritia M., Morte A., Barbanoj M. J. Human pharmacology of ayahuasca: subjective and cardiovascular effects, monoamine metabolite excretion, and pharmacokinetics. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* Jul 2003;306(1):73-83.
24. Kavenská V, Simonová H. Ayahuasca Tourism: Participants in Shamanic Rituals and their Personality Styles, Motivation, Benefits and Risks. *J. Psychoactive Drugs*. Nov-Dec 2015;47(5):351-9.
25. Piechowska P, Zawirska-Wojtasiak R, Mildner-Szkudlarz S. Bioactive β -Carbolines in Food: A Review. *Nutrients*. 2019;11(4):814.
26. Mendes-Costa M. Banisteriopsis Species: A Source of Bioactive of Potential Medical Application. *Int. J. Biotechnol.*. 01/01 2012;1:163-171.
27. Estrella-Parra EA, Almanza-Pérez JC, Alarcón-Aguilar F. J. Ayahuasca: Uses, Phytochemical and Biological Activities. *Nat. Prod. Bioprospect.* Aug 2019;9(4):251-265.

28. Banisteriopsis C.B. Rob. Staženo 09.02.2022,
<http://legacy.tropicos.org/Name/40024574?projectid=56>
29. *Banisteriopsis caapi* (Spruce ex Griseb.) Morton. Staženo 13.02.2022,
<https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:29180-2#synonyms>
30. Mendes-Costa M. Assessment of antimicrobial activity in vitro of ethanolic extracts of *Banisteriopsis anisandra* (A. Juss.) B. Gates (Malpighiaceae). *RBPM*. 01/01 2013;15:431-437.
31. Politi M., Friso F., Saucedo G., Torres J. Traditional Use of *Banisteriopsis caapi* Alone and Its Application in a Context of Drug Addiction Therapy. *J. Psychoactive Drugs*. Jan-Mar 2021;53(1):76-84.
32. Gonzalez D, Cantillo J, Perez I, et al. The Shipibo Ceremonial Use of Ayahuasca to Promote Well-Being: An Observational Study. *Front. Pharmacol.* 2021;12:623923.
33. Takiwasi: Traditional Amazonian Medicine. Staženo 04.03.2022,
<https://www.takiwasi.com/en/tto01-4.php>
34. Vybrané paragrafy zákona č. 40/2009 Sb. trestního zákoníku vztahujícího se k nedovolenému nakládání s OPL
35. Country by Country: Legal Status Map. Staženo 05.04.2022,
<https://www.iceers.org/adf/country-by-country-legal-status-map/>
36. Legal Status of Ayahuasca in Brazil. Staženo 04.04.2022,
https://erowid.org/chemicals/ayahuasca/ayahuasca_law6.shtml
37. Riba J., McIlhenny E. H., Valle M., Bouso J. C., Barker S. A. Metabolism and disposition of N,N-dimethyltryptamine and harmala alkaloids after oral administration of ayahuasca. *Drug Test Anal.* Jul-Aug 2012;4(7-8):610-6.
38. Vrána D. Liána smrti Ayahuasca: Lze tajemný lektvar prozření vyrobit i u nás? Staženo 23.01.2022, <https://enigmaplus.cz/liana-smrti-ayahuasca-lze-tajemny-lektvar-prozreni-vyrob-i-u-nas/>
39. Samoylenko V., Rahman M. M., Tekwani B. L., et al. *Banisteriopsis caapi*, a unique combination of MAO inhibitory and antioxidative constituents for the activities relevant to neurodegenerative disorders and Parkinson's disease. *J. Ethnopharmacol.* Feb 3 2010;127(2):357-67.
40. Gonçalves J., Luís Â., Gradillas A., et al. Ayahuasca Beverages: Phytochemical Analysis and Biological Properties. *Antibiotics*. Oct 24 2020;9(11)

41. Palhano-Fontes F., Barreto D., Onias H., et al. Rapid antidepressant effects of the psychedelic ayahuasca in treatment-resistant depression: a randomized placebo-controlled trial. *Psychol. med.* 2019;49(4):655-663.
42. Smith R. L., Canton H., Barrett R. J., Sanders-Bush E. Agonist properties of *N,N*-dimethyltryptamine at serotonin 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptors. *Pharmacol. Biochem. Behav.* Nov 1998;61(3):323-30.
43. Santos B. W. L., Oliveira R. C., Sonsin-Oliveira J., Fagg C. W., Barbosa J. B. F., Caldas E. D. Biodiversity of β -Carboline Profile of *Banisteriopsis caapi* and Ayahuasca, a Plant and a Brew with Neuropharmacological Potential. *Plants*. Jul 9 2020;9(7)
44. Lanaro R., Mello S. M., da Cunha K. F., et al. Kinetic profile of *N,N*-dimethyltryptamine and β -carbolines in saliva and serum after oral administration of ayahuasca in a religious context. *Drug Test Anal.* Mar 2021;13(3):664-678.
45. Gable R. S. Risk assessment of ritual use of oral dimethyltryptamine (DMT) and harmala alkaloids. *Addiction*. Jan 2007;102(1):24-34.
46. Soares D. B. S., Duarte L. P., Cavalcanti A. D., et al. *Psychotria viridis*: Chemical constituents from leaves and biological properties. *An. Acad. Bras. Cienc.* Apr-Jun 2017;89(2):927-938.
47. Blackledge R. *Psychotria viridis* – A Botanical Source of Dimethyltryptamine (DMT). *Microgram J.* 01/01 2003;1
48. Callaway J. C., Brito G. S., Neves E. S. Phytochemical analyses of *Banisteriopsis caapi* and *Psychotria viridis*. *J Psychoactive Drugs*. Jun 2005;37(2):145-50.
49. Ayahuasca flower. Staženo 13.02.2022,
<https://www.flickr.com/photos/ayahuasca/1294996501/in/photostream>
50. Mills G. DMT-dimethyltryptamine. Staženo 13.02.2022,
<https://www.chemistryworld.com/podcasts/dmt-dimethyltryptamine/4011791.article>
51. *Banisteriopsis laevifolia*. Staženo 05.03.2022,
<https://www.monaconatureencyclopedia.com/banisteriopsis-laevifolia/?lang=en>
52. Nunes B., Martins M., Chang R., et al. Antimicrobial activity, cytotoxicity and selectivity index of *Banisteriopsis laevifolia* (A. Juss.) B. Gates leaves. *Ind. Crops Prod.* 08/11 2016;92:277-289.
53. *Banisteriopsis laevifolia* (A.Juss.) B.Gates. Staženo 10.03.2022,
<https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:910067-1>
54. Ghosal S, Mazumder UK. Alkaloids of the leaves of *Banisteriopsis argentea*. *Phytochemistry*. 1971/11/01/ 1971;10(11):2840-2841.

55. *Banisteriopsis muricata* Cuatrec. Staženo 15.02.2022,
<https://herbariovaa.org/taxa/index.php?taxon=24166&clid=10>
56. Rocha dOE, Chang R, do Nascimento AE, et al. Chemical Composition and Bioactive Potential of Essential Oils from *Banisteriopsis campestris*. *Curr. Bioact. Compd.* 2020;16(8):1205-1214.
57. *Banisteriopsis anisandra* (A.Juss.) B.Gates. Staženo 04.03.2022,
<http://sweetgum.nybg.org/science/world-flora/monographs-details/?irn=11051>
58. Frias U. A., Mendes-Costa M., Takahashi J. Caracterização fitoquímica e avaliação das atividades antibacteriana e anticolinesterásica de extratos de *Banisteriopsis anisandra* A. Juss. (Malpighiaceae). *Rev. Cuba Plantas Med.* 01/01 2011;16:1-9.
59. *Banisteriopsis anisandra*. Staženo 18.02.2022,
<https://www.flickr.com/photos/mercadanteweb/11256467504/in/photostream/>
60. *Banisteriopsis anisandra: cipó - prata*. Staženo 14.02.2022,
https://www.flickr.com/photos/ricardo_photos/
61. *Banisteriopsis oxyclada* (A.Juss.) B.Gates. Staženo 15.02.2022,
<https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:29247-2>
62. *Banisteriopsis oxyclada*. Staženo 15.02.2022,
<https://www.flickr.com/photos/mercadanteweb/17953288269>
63. *Diplopterys cabrerana* (Cuatrec.) B.Gates. Staženo 08.02.2022,
<http://sweetgum.nybg.org/science/world-flora/monographs-details/?irn=11090>
64. *Diplopterys cabrerana* Staženo 14.02.2022,
<https://www.flickr.com/photos/92252798@N07/18183804525>
65. Sacramento V. M., Santos K. T., Rocha D. F. O., et al. Chemical profile and antioxidant activity in *Diplopterys pubipetala* (Malpighiaceae). *Nat. Prod. Res.* Dec 8 2020:1-5.
66. Freitas J., França F., Chaves M., et al. Chromatographic profiles, anti-inflammatory, and cytotoxicity potential of extracts of *Banisteriopsis pubipetala* (A. Juss). *Pharmacogn. Res.* 01/01 2019;11:339.
67. Martins V. E. X., Nascimento E. A., Cunha L. C. S., et al. Antimicrobial Activity of Seasonal Essential Oils From *Banisteriopsis Malifolia* (Ness & Mart.) B. Gates. *RVq.* 2020;12.
<http://static.sites.s bq.org.br/rvq.s bq.org.br/pdf/v12n2a16.pdf>
68. *Banisteriopsis malifolia* (Nees & Mart.) B.Gates. Staženo 17.02.2022,
<https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:29227-2>

69. Quaresma D., Justino A., Sousa R., et al. Antioxidant compounds from *Banisteriopsis argyrophylla* leaves as α -amylase, α -glucosidase, lipase, and glycation inhibitors. *Bioorg. Chem.* 12/01 2020;105:104335.
70. Oliveira D. M., Silva T. F. R., Martins M. M., et al. Antifungal and cytotoxicity activities of *Banisteriopsis argyrophylla* leaves. *J. Pharm. Pharmacol.* Nov 2018;70(11):1541-1552.
71. *Banisteriopsis argyrophylla* (A. Juss.) B. Gates. Staženo 17.02.2022, <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:910062-1>
72. Omar F., Tareq A. M., Alqahtani A. M., et al. Plant-Based Indole Alkaloids: A Comprehensive Overview from a Pharmacological Perspective. *Molecules.* 2021;26(8)
73. Krsková Z., Martin J., Dusek J.. The inhibition activity of selected beta-carboline alkaloids on enzymes of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase. *Ceska Slov. Farm.* Jun 2011;60(3):125-31.
74. Taylor W. I. Chapter IV - Simple Derivatives of Tryptophan. In: Taylor WI, ed. *Indole Alkaloids*. Pergamon; 1966:29-51.
75. Jamieson C. S, Misa J., Tang Y., Billingsley J. M. Biosynthesis and synthetic biology of psychoactive natural products. *Chem. Soc. Rev.* Jun 21 2021;50(12):6950-7008.
76. Araújo A. M., Carvalho F., Bastos Mde L, Guedes de Pinho P, Carvalho M. The hallucinogenic world of tryptamines: an updated review. *Arch. Toxicol.* Aug 2015;89(8):1151-73.
77. Dean J. G., Liu T., Huff S., et al. Biosynthesis and Extracellular Concentrations of *N,N*-dimethyltryptamine (DMT) in Mammalian Brain. *Sci. Rep.* 2019;9(1):9333-9333.
78. BAUER B. E. The Biosynthesis of DMT. Staženo 01.04.2022, <https://psychedelicreview.com/the-biosynthesis-of-dmt/>
79. Beitz J. M. Parkinson's disease: a review. *Front. Biosci. (Schol Ed).* Jan 1 2014;6(1):65-74.
80. Parkinsonova nemoc: příznaky. Staženo 13.02.2022, <https://www.nzip.cz/clanek/1126-parkinsonova-nemoc-priznaky>
81. Kegel M. Researchers Discover Why L-DOPA Stops Working in Parkinson's, Seek Prolonged Treatment. Staženo 21.04.2022, <https://parkinsonsnewstoday.com/2016/08/04/researchers-discover-why-l-dopa-stop-working-parkinsons-seeking-prolonged-treatment/>
82. Finberg J. P. M., Rabey J. M. Inhibitors of MAO-A and MAO-B in Psychiatry and Neurology. *Front. pharmacol.* 2016;7:340-340. d
83. Harmine. Staženo 28.03.2022, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Harmine>

84. Patel K., Gadewar M., Tripathi R., Prasad S. K., Patel D. K. A review on medicinal importance, pharmacological activity and bioanalytical aspects of beta-carboline alkaloid "Harmine". *Asian Pac. J. Trop. Biomed.*. 2012;2(8):660-664.
85. Schwarz M. J., Houghton P. J., Rose S., Jenner P., Lees A. D. Activities of extract and constituents of *Banisteriopsis caapi* relevant to parkinsonism. *Pharmacol. Biochem. Behav.* Jun 2003;75(3):627-33.
86. Djamshidian A., Bernschneider-Reif S., Poewe W., Lees A. J. *Banisteriopsis caapi*, a Forgotten Potential Therapy for Parkinson's Disease? *Mov. Disord. Clin. Pract.* 2015;3(1):19-26.
87. Fisher R., Lincoln L., Jackson M. J., et al. The effect of *Banisteriopsis caapi* (*B. caapi*) on the motor deficits in the MPTP-treated common marmoset model of Parkinson's disease. *Phytother Res.* Apr 2018;32(4):678-687.
88. Brierley D. I., Davidson C. Developments in harmine pharmacology - Implications for ayahuasca use and drug-dependence treatment. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* 2012/12/03/ 2012;39(2):263-272.
89. Zhang L., Li D., Yu S. Pharmacological effects of harmine and its derivatives: a review. *Arch Pharm Res.* Dec 2020;43(12):1259-1275.
90. Dakic V., Maciel R. M., Drummond H., Nascimento J. M., Trindade P., Rehen S. K. Harmine stimulates proliferation of human neural progenitors. *PeerJ.* 2016;4:e2727-e2727.
91. Morales-García J. A., Fuente-Revenga M, Alonso-Gil S., et al. The alkaloids of *Banisteriopsis caapi*, the plant source of the Amazonian hallucinogen Ayahuasca, stimulate adult neurogenesis in vitro. *Sci Rep.* Jul 13 2017;7(1):5309.
92. Du W., Aloyo V. J., Harvey J. A. Harmaline competitively inhibits [³H]MK-801 binding to the NMDA receptor in rabbit brain. *Brain Res.* Oct 3 1997;770(1-2):26-9.
93. Handforth A. Harmaline tremor: underlying mechanisms in a potential animal model of essential tremor. *TOHM.* 2012;2:02-92-769-1.
94. Frost D., Meechoovet B., Wang T., et al. β -carboline compounds, including harmine, inhibit DYRK1A and tau phosphorylation at multiple Alzheimer's disease-related sites. *PLoS One.* May 6 2011;6(5):e19264.
95. Santos B. W. L., Moreira D. C., Borges T., Caldas E. D. Components of *Banisteriopsis caapi*, a Plant Used in the Preparation of the Psychoactive Ayahuasca, Induce Anti-Inflammatory Effects in Microglial Cells. *Molecules.* Apr 13 2022;27(8)

96. Yamazaki Y., Kawano Y. Inhibitory effects of herbal alkaloids on the tumor necrosis factor- α and nitric oxide production in lipopolysaccharide-stimulated RAW264 macrophages. *Chem. Pharm. Bull.* 2011;59(3):388-91.
97. Liu X., Li M., Tan S., Wang C., Fan S., Huang C. Harmine is an inflammatory inhibitor through the suppression of NF- κ B signaling. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* Jul 29 2017;489(3):332-338.
98. Moura D. J., Richter M. F., Boeira J. M., Pêgas Henriques J. A., Saffi J. Antioxidant properties of β -carboline alkaloids are related to their antimutagenic and antigenotoxic activities. *Mutagenesis.* 2007;22(4):293-302.
99. Depression. Staženo 03.04.2022, <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/depression>
100. Janů L., Racková S. Jak správně poznat a léčit depresi. *Med. praxi* 2007.1:24-27. <https://www.medicinapropraxi.cz/pdfs/med/2007/01/06.pdf>
101. Biochemické hypotézy afektivních poruch. Staženo 05.02.2022, <http://www1.lfl.cuni.cz/~zfsisar/bp/7.3.old.htm>
102. Santos R. Data from: 5. The therapeutic potential of harmine and ayahuasca in depression: Evidence from exploratory animal and human studies. 2016.
103. Fortunato J. J., Réus G. Z., Kirsch T. R., et al. Chronic administration of harmine elicits antidepressant-like effects and increases BDNF levels in rat hippocampus. *J. Neural. Transm.* Oct 2010;117(10):1131-7.
104. Liu F., Wu J., Gong Y., et al. Harmine produces antidepressant-like effects via restoration of astrocytic functions. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* Oct 3 2017;79(Pt B):258-267.
105. Cameron L. P., Benson C. J., DeFelice B. C., Fiehn O., Olson D. E. Chronic, Intermittent Microdoses of the Psychedelic N,N-Dimethyltryptamine (DMT) Produce Positive Effects on Mood and Anxiety in Rodents. *ACS Chem. Neurosci.* 2019;10(7):3261-3270.
106. Rush B., Marcus O., García S., et al. Protocol for Outcome Evaluation of Ayahuasca-Assisted Addiction Treatment: The Case of Takiwasi Center. *Front Pharmacol.* 2021;12:659644.
107. Treatment results. Staženo 29.04.2022, <https://www.takiwasi.com/en/tto01-6.php>
108. Ruan S., Jia F., Li J. Potential Antitumor Effect of Harmine in the Treatment of Thyroid Cancer. *eCAM.* 2017;2017:9402615-9402615.
109. Alomar M. L., Rasse-Suriani F. A., Ganuza A., Cóceres V. M., Cabrerizo F. M., Angel SO. In vitro evaluation of β -carboline alkaloids as potential anti-Toxoplasma agents. *BMC Res Notes.* May 10 2013;6:193.

110. Tabari M. A, Youssefi M. R., Moghadamnia A. A. Antitrichomonal activity of Peganum harmala alkaloid extract against trichomoniasis in pigeon (*Columba livia domestica*). *Br. Poult. Sci.* Jun 2017;58(3):236-241.
111. Im J. H., Jin Y. R., Lee J. J., et al. Antiplatelet activity of beta-carboline alkaloids from Peganum harmala: a possible mechanism through inhibiting PLCgamma2 phosphorylation. *Vascul Pharmacol.* May-Jun 2009;50(5-6):147-52.
112. Ahmad A., Khan K. A., Sultana S., et al. Study of the in vitro antimicrobial activity of harmine, harmaline and their derivatives. *J. Ethnopharmacol.* Jan 1992;35(3):289-94.
113. Wang P., Alvarez-Perez J. C., Felsenfeld D. P., et al. A high-throughput chemical screen reveals that harmine-mediated inhibition of DYRK1A increases human pancreatic beta cell replication. *Nat Med.* Apr 2015;21(4):383-8.

Abstrakt

Autor: Karolina Nieslaniková

Název: Indolové alkaloidy a jejich biologická aktivita: rod *Banisteriopsis*

Diplomová práce

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra farmakognozie a farmaceutické botaniky

2022, 69 s.

Klíčová slova:

Banisteriopsis, inhibitory monoaminoxidasy (MAOi), Parkinsonova choroba, antidepressivní aktivita, β -karboliny, harmin

Cílem této rešeršní diplomové práce bylo shrnout všechny dosud známé informace o indolových alkaloidech izolovaných z rostlin rodu *Banisteriopsis*. Fytochemicky významné druhy rodu *Banisteriopsis* byly zpracovány do přehledu s botanickou a fytochemickou charakteristikou. Dále byl vytvořen přehled alkaloidů izolovaných z těchto rostlin a popsána jejich biologická aktivita.

Fytochemicky a botanicky bylo zpracováno 10 druhů rostlin rodu *Banisteriopsis*, ve kterých bylo identifikováno celkem 14 alkaloidů a 2 alkaloidní glykosidy. Tyto alkaloidy jsou rozděleny do dvou skupin: β -karboliny a tryptaminy. Nejdůležitější skupinu alkaloidů v rodu *Banisteriopsis* tvoří harmalové alkaloidy s aktivitou neuroprotektivní, antidepressivní, antitumorózní, antiadiktivní, protizánětlivou, antimikrobiální, antioxidační, antiagregační a antidiabetickou. Jejich biologická aktivita spočívá v inhibici MAO, AChE, BuChE, DYRK enzymů a vazbě k serotoninovým, dopaminovým, benzodiazepinovým a imidazolinovým receptorům. Byla popsána biologická aktivita harminu, která souvisí s jeho klinickým využitím pro léčbu neurodegenerativních onemocnění.

Abstract

Author: Karolina Nieslaniková

Name: Indole alkaloids and their biological activity: genus *Banisteriopsis*

Diploma thesis

Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Department of Pharmacognosy and Pharmaceutical Botany

2022, 69 p.

Key words:

Banisteriopsis, monoamine oxidase inhibitors (MAOi), Parkinson's disease, antidepressant activity, β -carbolines, harmine

The aim of this research diploma thesis was to summarize all known information about indole alkaloids isolated from plants of the genus *Banisteriopsis*. Phytochemically important species of the genus *Banisteriopsis* were processed with an overview of botanical and phytochemical characteristics. Also in this thesis you can find an overview of alkaloids isolated from these plants and description of their biological activities.

10 plant species of the genus *Banisteriopsis* were processed phytochemically and botanically and there where identified a total of 14 alkaloids and 2 alkaloid glycosides. These alkaloids are divided into two groups: β -carbolines and tryptamines. The most important group of alkaloids in the genus *Banisteriopsis* consists of harmala alkaloids with neuroprotective, antidepressant, antitumor, antiaddictive, anti-inflammatory, antimicrobial, antioxidant, antiplatelet and antidiabetic activity. Their biological activity consists in the inhibition of MAO, AChE, BuChE, DYRK enzymes and in their affinity to serotonin, dopamine, benzodiazepine and imidazoline receptors. The biological activity of harmine have been described in relation to its clinical use in the treatment of neurodegenerative diseases.