

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

Faculdade de Farmácia

Disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia

Alcaloides como drogas potenciais no tratamento de gliomas: uma revisão

Gabriela Zatti Bertola

Porto Alegre, 24 de junho de 2014.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

Faculdade de Farmácia

Disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia

Alcaloides como drogas potenciais no tratamento de gliomas: uma revisão

Gabriela Zatti Bertola

Professora Doutora Christianne Gazzana Salbego

Orientadora

Professora Doutora Daniéli Gerhardt

Co-orientadora

Porto Alegre, junho de 2014.

Este artigo foi elaborado segundo as normas da revista "*Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*" apresentadas em anexo, e será submetido após correção da banca avaliadora.

Alcaloides como drogas potenciais no tratamento de gliomas: uma revisão

Gabriela Zatti Bertola^{1*}, Daniéli Gerhardt², Christianne Gazzana Salbego¹

¹Departamento de Bioquímica, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil.

²Centro Universitário Univates, Lajeado, RS, Brasil.

*Autora para correspondência: Gabriela Zatti Bertola, Departamento de Bioquímica, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, UFRGS. Rua Ramiro Barcelos, 2600 – anexo, CEP 90035-003, Porto Alegre, RS, Brasil, Tel: +55 (51) 3308.5547; Fax: +55 (51) 3308.5535; E-mail: gabyzbertola@gmail.com.

RESUMO

Gliomas são tumores cerebrais derivados da glia encefálica, e dentre eles, o glioblastoma é o mais frequente e mais agressivo, levando a uma sobrevida em torno de um ano após o diagnóstico. Os alcaloides são substâncias naturais com uma vasta diversidade estrutural e atividades farmacológicas, dentre estas, atividade antitumoral. O objetivo deste estudo foi realizar uma revisão bibliográfica dos últimos cinco anos sobre os alcaloides descritos até hoje por apresentarem alguma atividade antineoplásica frente a estes tumores. Foram encontrados 38 artigos elucidando o mecanismo de ação antitumoral de 27 alcaloides. Dentre os alcaloides pesquisados, cita-se os alcaloides da família das Amarilidáceas, a boldina, berberina, as metilxantinas cafeína e teobromina, e alcaloides marinhos. Os alcaloides encontrados foram divididos em citostáticos, citotóxicos e os que apresentam os dois mecanismos. O principal efeito dos alcaloides citostáticos foi na organização do citoesqueleto de actina das células, e dos citotóxicos e dos que possuem ambas as ações foi a indução de morte celular por apoptose através de diferentes alvos. A descoberta de novas drogas que possam diminuir a morbidade e a mortalidade dos gliomas é necessária. Devido à grande história do uso de alcaloides no tratamento do câncer e de outras doenças, esta se mostra uma fonte muito rica de potenciais drogas que podem vir a ser usadas no tratamento desta malignidade.

Unitermos: amarilidáceas, alcaloides, berberina, boldina, gliomas, metilxantinas.

INTRODUÇÃO

Há muito tempo o homem utiliza substâncias naturais, principalmente as de origem vegetal, para o tratamento de enfermidades (Barreiro, 1990). A busca por alívio e cura das doenças pela ingestão de ervas e folhas pode ter sido a primeira forma de utilização dos produtos naturais na medicina (Viegas, Bolzani, 2006).

Desde Galeno (129-199) que se procura detectar e utilizar drogas naturais sob a forma pura, ou seja, compostos completamente isolados dos extratos vegetais (Barreiro, 1990). Os estudos de Derosne, realizados no início do século XIX, sobre a constituição química do ópio, isolamento da morfina e a publicação de trabalhos sobre o *principium somniferum* são considerados os pioneiros na busca pela utilização de compostos isolados (Viegas, Bolzani, 2006).

Estudos focados no isolamento de princípios ativos de plantas e elucidação de seus mecanismos de ação continuam expressivos nos dias atuais, tanto para que se possa entender o que a humanidade usa empiricamente desde os primórdios dos tempos, como para que novos candidatos a fármacos sejam descobertos (Barreiro, 1990; Viegas, Bolzani, 2006).

O século XX também foi marcado por um avanço extraordinário na pesquisa de produtos naturais no campo da oncologia, propiciando a descoberta de diversas substâncias utilizadas atualmente na terapêutica antineoplásica. De fato, a maioria (60%) dos fármacos antineoplásicos introduzida na terapêutica nas últimas décadas teve sua origem nos produtos naturais (Newman, Cragg, 2007; Butler, 2008; Harvey, 2008).

O câncer é considerado uma doença muito antiga. Há relatos de egípcios, persas e indianos, 30 séculos antes de Cristo (a.C.), referindo-se a tumores

malignos. Porém, foi só no século IV a.C., que a escola hipocrática grega caracterizou o câncer como um tumor sólido, que frequentemente reaparecia após ser extirpado, ou que se alastrava para diversas partes do corpo. Desta época até o século XV, o câncer era visto como um desequilíbrio de fluidos (Teixeira, Fonseca, 2007).

Com o desenvolvimento do estudo da anatomia, e a descoberta de que os órgãos são formados por diferentes tecidos, o câncer passou a ser visto como uma doença local e possibilitou a compreensão de suas distintas formas e diversas localizações. Já no século XIX, foi descoberto que o câncer se desenvolve a partir de células normais, e que as metástases são resultado do transporte das células cancerosas pela corrente sanguínea ou linfática. Como tratamento, as primeiras estratégias baseavam-se em cirurgias, datadas de 1840, possibilitadas já na época pela utilização de anestésicos (Teixeira, Fonseca, 2007).

A quimioterapia entra em uso apenas no século XX, a partir de estudos com o gás mostarda, os quais demonstraram que esta substância causava remissão de linfomas. E em 1942, foi desenvolvida a primeira droga antitumoral, chamada Mecloretamina, um agente alquilante derivado do gás mostarda (Almeida *et al*, 2005). Na década de 50, a utilização popular do extrato da vinca (*Catharanthus roseus*) como hipoglicemiante pelo povo africano chamou a atenção de pesquisadores. Estes trataram ratos com o extrato bruto extraído das folhas da vinca e constataram que o mesmo causava depressão da atividade da medula óssea. A partir destes achados, foram isolados dois alcaloides com grande atividade antitumoral, a vincristina e a vimblastina, ambas consideradas um marco na história dos quimioterápicos oriundos de extratos vegetais (Peixoto, Caetano, 2005; Schripsema, Dagnino, Gosmann, 2003). Esta descoberta foi decisiva para incentivar a pesquisa no desenvolvimento de novos fármacos, devido tanto ao mecanismo de ação único quanto a pouca resistência cruzada entre essas substâncias e às inúmeras modificações estruturais possíveis (Schripsema, Dagnino, Gosmann, 2003).

O mecanismo de ação dos alcaloides da vinca consiste em parada na divisão celular durante a metáfase devido a sua ligação específica com a tubulina, inibindo sua polimerização e interferindo assim, na montagem dos microtúbulos necessários para que a mitose aconteça (Brandão *et al*, 2010). Atualmente, estes alcaloides ainda são utilizados, por exemplo, a vimblastina em associação com outros quimioterápicos é utilizada para o tratamento de linfomas e sarcoma de Kaposi, e a vincristina para leucemia linfoblástica infantil em diferentes protocolos terapêuticos. A vinorelbina, um derivado sintético, é utilizada no tratamento de câncer de mama, de ovário e carcinomas de pulmão ditos de não pequenas células (Schripsema, Dagnino, Gosmann, 2003; Brandão *et al*, 2010).

Os gliomas estão entre os mais de 100 tipos de cânceres já diagnosticados,. Estes são tumores cerebrais, originários das células da glia encefálica, classificados pela Organização Mundial da Saúde (OMS) em: astrocitomas, oligodendrogliomas, oligoastrocitomas e ependimomas (Louis *et al*, 2007).

Para o ano de 2014, nos EUA, segundo a American Cancer Society, estima-se 23.380 novos casos de câncer cerebral e destes, mais de 14 mil mortes (American Cancer Society, 2014). Já o Instituto Nacional de Câncer, estima 9.000 novos casos de câncer do Sistema Nervoso Central (SNC) para o Brasil neste ano, sendo que na região Sul do Brasil, este tipo de câncer é o nono mais comum em homens, e o décimo primeiro mais comum em mulheres (INCA, 2014).

Os gliomas derivados de astrócitos (astrocitomas), os mais prevalentes dentre os tumores do SNC, são subdivididos de acordo com critérios de malignidade em: grau I: astrocitoma pilocítico; grau II; astrocitoma difuso; grau III: astrocitoma anaplásico e grau IV: glioblastomas (Louis *et al*, 2007; Henriques *et al*, 2003).

Os glioblastomas contabilizam em torno de 70% dos gliomas (Jovčevska, Kočevár, Komel, 2013) e são lesões citologicamente malignas, mitoticamente ativas, são sempre infiltrativas, apresentam necrose e hemorragia e podem possuir variantes histopatológicas como células gigantes, pleomorfismo celular

e nuclear (Dai, Holland, 2001). É um tipo de tumor muito agressivo e com média de sobrevida menor que um ano (Jovčevska, Kočevar, Komel, 2013).

Glioblastomas também são caracterizados pelo rápido crescimento e frequente recorrência apesar do tratamento multimodal, que envolve cirurgia extrativa em combinação com radioterapia e regimes de quimioterapia. Dentre os quimioterápicos usados estão a temozolamida (Temodar®), de primeira linha, e o bevacizumab (Avastin®), de segunda linha; também podem ser utilizados o irinotecan, lomustina e vincristina (Mrugala, 2013). Apesar da introdução recente do bevacizumab, glioblastoma ainda é considerado uma doença “órfã”, ou seja, não atrai muitos investimentos para pesquisas em novas drogas (Jiang *et al*, 2014).

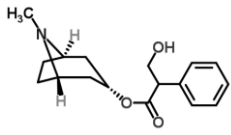
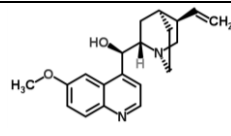
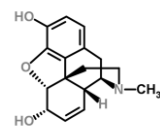
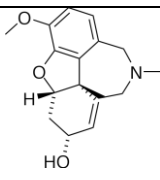
Devido às várias características de glioblastomas apresentadas aqui, a busca por novos agentes antitumorais e novas abordagens que possam diminuir a morbidade e mortalidade desta doença se faz necessária.

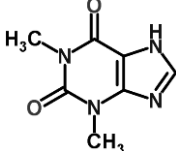
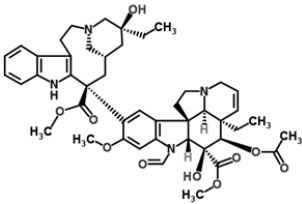
Dentre as classes de substâncias de interesse na medicina, estão os alcaloides, moléculas nitrogenadas, derivadas de aminoácidos, farmacologicamente ativas, encontradas principalmente nas angiospermas, mas também em microrganismos e animais marinhos (Kittakoop, Mahidol, Ruchirawat, 2014; Henriques *et al*, 2003). A definição mais aceita, nos dias atuais, para designar este tipo de substância, é a de Pelletier: substância orgânica, de origem natural, cíclica, contendo um nitrogênio em um estado de oxidação negativo e cuja distribuição é limitada entre os organismos vivos (Henriques *et al*, 2003).

Os alcaloides contendo um átomo de nitrogênio em um anel heterocíclico são chamados alcaloides verdadeiros e são classificados de acordo com o sistema anelar presente na molécula. As substâncias com átomo de nitrogênio não-pertencente a um sistema heterocíclico são denominados de protoalcaloides. Compostos nitrogenados com e sem anéis heterocíclicos que não são derivados de aminoácidos são chamados pseudoalcaloides (Henriques *et al*, 2003).

Os alcaloides constituem um vasto grupo de metabólitos com grande diversidade estrutural, e, portanto, amplo espectro de atividades biológicas (Kittakoop, Mahidol, Ruchirawat, 2014; Henriques *et al*, 2003). Esse grupo químico tem apresentado um grande impacto através dos tempos na economia e na medicina. O uso de extratos vegetais contendo alcaloides como medicamento ou como veneno pode ser traçado desde os primórdios da civilização. Atualmente, diversos alcaloides isolados, em associação ou seus derivados são utilizados na terapêutica (Jiang *et al*, 2014; Henriques *et al*, 2003). Na Tabela I, são mostradas algumas estruturas químicas de alcaloides e seu emprego terapêutico.

TABELA I. Alguns alcaloides utilizados na terapêutica.

Classe	Alcalóide	Uso
Tropânicos	 <p>Atropina</p>	Anticolinérgico
Quinolínicos	 <p>Quinina</p>	Antimalárico
Opióides	 <p>Morfina</p>	Analgésico
Benzilisoquinolinas	 <p>Galantamina</p>	Tratamento do Mal de Alzheimer

Metilxantinas	 <p>Theophylline</p>	Diurético
Indólicos	 <p>Vincristina</p>	Quimioterápico

Dada a diversidade de alcaloides já isolados de extratos de produtos naturais e a falta ainda de uma estratégia terapêutica eficiente para os tumores que acometem o SNC, o objetivo desta revisão foi realizar um compilado de estudos sobre os alcaloides descritos até hoje por apresentarem alguma atividade antineoplásica frente a estes tumores. Esta revisão possui o intuito, também, de contribuir e facilitar estudos futuros, pois poderá ser considerada uma fonte de apoio, apontando metodologias já abordadas e possíveis mecanismos de ação já propostos para os alcaloides estudados.

METODOLOGIA

A pesquisa foi realizada nas bases de dados Pubmed e Scielo, em inglês e português, com as palavras glioma/glioblastoma e alcaloide (em inglês: alkaloid). Foram analisados os trabalhos publicados nos últimos 5 anos.

DESENVOLVIMENTO

A seguir, serão expostos os principais dados encontrados referentes aos alcaloides já pesquisados em estudos sobre drogas antineoplásicas contra tumores do Sistema Nervoso Central.

I. Boldina:

Este alcaloide aporfínico, de estrutura (S)-2,9-diidroxi-1,10-dimetóxi-aporfina, é encontrado abundantemente nas folhas e cascas do Boldo do Chile (*Peumus boldus* Molina), cuja infusão é utilizada folcloricamente para o tratamento de distúrbios digestivos e hepatobiliares (Speisky, Cassels, 1994). A boldina exibe atividades farmacológicas como imunomoduladora (Gonzalez-Cabello *et al*, 1994), antioxidante e citoprotetora (Speisky *et al*, 1991). Em nosso laboratório, demonstramos a atividade antitumoral da boldina em linhagens celulares de glioma humano e de rato (U138 MG, U87 MG e C6) e em um modelo experimental de implantação de glioma *in vivo*. *In vitro*, a boldina é capaz de diminuir o crescimento celular nas três linhagens citadas acima. Na linhagem U138MG, o mecanismo parece envolver a indução de parada no ciclo celular em G2/M, observado por análise de citometria de fluxo. Diferentemente, na linhagem de glioma de rato C6, observa-se que a boldina aumenta o número de células necróticas (Gerhardt *et al*, 2009). Utilizando o modelo *in vivo* de implantação de glioma observamos que o tratamento com a boldina diminui o tamanho dos tumores, e a análise do tecido com anticorpo contra a proteína Ki67 (expressa exclusivamente em células em divisão), sugere uma diminuição do número de mitoses. Além disso, algumas características de malignidade como necrose e hemorragia intratumorais também são menos pronunciadas nos tumores de ratos tratados se comparados com ratos não tratados com a droga (Gerhardt *et al*, 2013). Em um ensaio de toxicidade em cultura organotípica de hipocampo de rato, nota-se que a boldina não causa alterações neste tecido, e, portanto, não é citotóxica em células não tumorais (Gerhardt *et al*, 2009). Da mesma forma, *in vivo*, não se observam alterações histológicas em tecido cardíaco, hepático e intestinal ou alterações nas enzimas hepáticas alanina-aminotransferase e aspartato-aminotransferase de animais saudáveis tratados, mostrando a não toxicidade da droga também *in vivo* (Gerhardt *et al*, 2013).

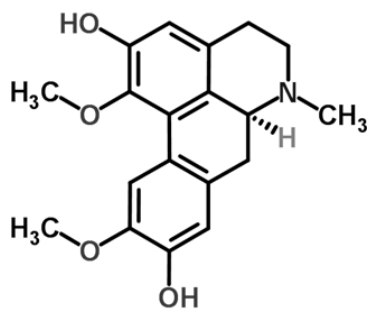


FIGURA 1. Estrutura da Boldina.

II. Berberina:

Berberina é um sal de amônio quaternário do grupo das protoberberinas pertencente ao grupo dos alcaloides isoquinolínicos (Tan *et al*, 2011). Usada popularmente para infecções intestinais por parasitas, como antiarrítmico, anti-inflamatório e imunossupressor (Abd El-Wahab, 2013). A atividade antitumoral para este alcaloide também já está descrita. Seu mecanismo de ação parece estar relacionado com a capacidade de interação com ácidos nucleicos, principalmente DNA (Tan *et al*, 2011). Em um modelo *in vitro* de gliomas com a linhagem T98G, a droga possui efeitos citotóxicos relacionados ao acúmulo de Espécies Reativas de Oxigênio (EROs), efeitos pró-apoptóticos relacionados com disfunção mitocondrial e aumento da clivagem de PARP. Tem efeitos sobre as proteínas Bcl-2 e Bax (Eom *et al*, 2010). Na linhagem C6, induz parada no ciclo celular em G2/M, diminuindo a expressão de CDKs, ciclinas e de Bcl-2, tem efeito pró-apoptótico ao induzir a ativação de caspases. Provoca dano ao DNA, e induz a produção de EROs (Chen *et al*, 2009). A biodisponibilidade oral da berberina é muito baixa (Godugu *et al*, 2014; Tan *et al*, 2011), em torno de 1%, devido à baixa permeação intestinal e baixa solubilidade em água, e, portanto, para efeitos terapêuticos, a dose utilizada deveria ser muito alta (Godugu *et al*, 2014). Um polímero mucoadesivo de liberação controlada de fármacos micronizados foi utilizado por Godugu e colaboradores (2014) para avaliar a farmacocinética da berberina, obtendo resultados satisfatórios quanto à biodisponibilidade. Uma revisão sobre estudos de sistemas de liberação nanoparticulados com berberina mostra que estes provaram ter ótimos resultados (Tan *et al*, 2011).

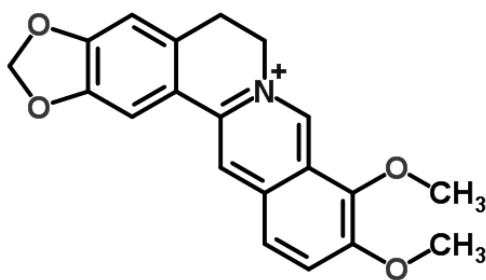


FIGURA 2. Estrutura da Berberina.

III. Alcaloides da Família das Amarilidáceas:

A família *Amaryllidaceae* é um grupo de monocotiledôneas que mais de mil espécies e é encontrado nos trópicos e regiões temperadas. Dentre os gêneros mais conhecidos desta família estão: *Narcissus*, *Crinum*, *Lycoris*, *Amaryllis*, *Nerine*, entre outros (Tacos, Rook, 2013). O primeiro alcaloide isolado, em 1887, foi a licorina de *Narcissus pseudonarcissus* (Van Goietsenoven *et al*, 2010; Lamoral-Theys *et al*, 2009) e estima-se que atualmente, mais de 300 alcaloides tenham sido isolados das plantas desta família (Tacos, Rook, 2013). Estes alcaloides são classificados em grupos, de acordo com suas semelhanças estruturais e, embora os alcaloides de *Amaryllidaceae* tenham diversos tipos estruturais, todos são biogeneticamente derivados da norbeladina (Tacos, Rook, 2013; Lamoral-Theys *et al*, 2010).

O estudo sobre os alcaloides derivados dessas plantas iniciou-se após o isolamento da galantamina, nos anos 1950, um alcaloide inibidor reversível da acetilcolinesterase, utilizado atualmente no tratamento da doença de Alzheimer (Van Goietsenoven *et al*, 2010).

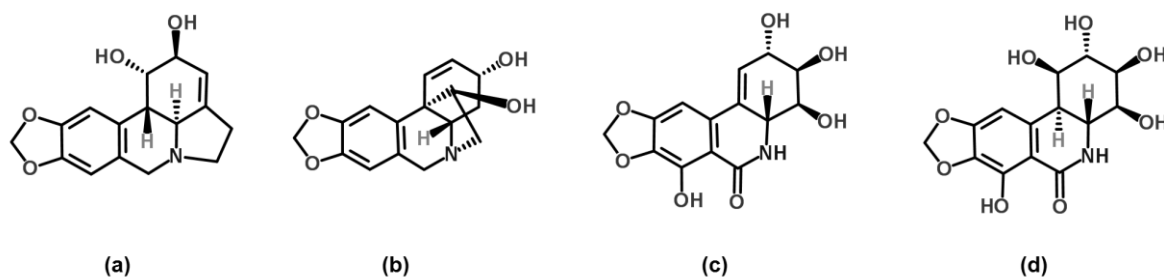


FIGURA 3. Estrutura dos alcalóides da família das Amarilidáceas. (a) Licorina. (b) Bulbispermina. (c) Narciclasina e (d) Pancratistatina.

a) Licorina e derivados:

A licorina, um alcaloide com um anel tipo pirrolo[de]fenantridina[33], que pode ser encontrado em vários gêneros da família das Amarilidáceas, como *Clivia*, *Galanthus*, *Haemanthus*, *Lycoris* e *Narcissus*. Dentre suas atividades farmacológicas já reportadas estão: anti-inflamatória, antimalárica, antiviral, emética e antitumoral (Takos, Rook, 2013). Estudos sobre a atividade antitumoral da licorina mostram que este alcaloide possui atividade contra linhagens resistentes ou sensíveis a estímulos pró-apoptóticos (Van Goietsenoven *et al*, 2010; Lamoral-Theys *et al*, 2009). Apesar de seu mecanismo de ação ainda não estar completamente elucidado, Lamoral-Theys (2009) mostrou que a licorina, na concentração de 5µM, é capaz de inibir a proliferação sem induzir morte celular na linhagem de glioblastoma U373, e este efeito citostático que, provavelmente acontece durante a citocinese, ocorre parcialmente pelo aumento da actina polimerizada nas células, e portanto pelo aumento da rigidez do citoesqueleto de actina. Outros estudos mostram que a licorina também é capaz de induzir apoptose e parada no ciclo celular de diversas linhagens de câncer (Li *et al*, 2012), bem como supressão da angiogênese em câncer ovariano (Cao *et al*, 2013). Hao, Shen e Zhao (2013), em seu estudo sobre os alcaloides da *Lycoris radiata*, mostraram que o alcaloide (+)-5,6-dehidrolicorina exibiu potente ação citotóxica contra as linhagens de glioma CHG-5, SHG-44, U251, com ação comparável à da licorina. Em um estudo conduzido por Katoch e colaboradores (2013) com a linhagem de glioma C6, a licorina exibiu um IC50 (concentração inibitória máxima para 50% da população em estudo) menor que 10 µg/mL, sendo o alcaloide encontrado na *Zephyranthes grandiflora*, outra planta da família das Amarilidáceas com maior atividade antitumoral. Devido à alta atividade antitumoral apresentada por este alcaloide e por sua baixa solubilidade em água, derivados estruturais da licorina ainda são sintetizados e analisados (Wang *et al*, 2014; Evdokimov *et al*, 2011, Lamoral-Theys *et al*, 2010).

b) Esqueleto tipo Crinina:

A bulbispermina ou hamaína ((3α,11R,13β)-1,2-Dideidrocrinana-3,11-diol), encontrada abundantemente nas plantas da espécie *Crinum bulbispermum*, foi

estudada por Luchetti e colaboradores (2012) contra gliomas, utilizando uma linhagem sensível a estímulos apoptóticos (oligodendroma anaplásico – Hs683), linhagens resistentes (U373-MG e T98G) e uma de resistência desconhecida a estímulos apoptóticos (U87). Neste estudo, observa-se que a bulbispermina teve potências comparáveis entre as linhagens e, portanto, não as discrimina neste critério. Seu efeito é citostático, sem induzir morte celular nas linhagens U373 e U87. A bulbispermina é capaz de aumentar a rigidez do citoesqueleto, por aumentar a polimerização da actina, tendo um mecanismo de ação semelhante ao da licorina.

c) Outros alcaloides da família das Amarilidáceas

Alcaloides do grupo isocarboستيرil, como a narciclasina e pancratistatina, foram estudados e exibiram atividade antitumoral contra células de várias linhagens de glioma. A narciclasina se mostra 100 vezes mais potente que a licorina na sua atividade citostática, porém devido a sua alta toxicidade revelada por ensaios pré-clínicos realizados pelo National Cancer Institute (Instituto Nacional do Câncer, Estados Unidos) na década de 1970, a pesquisa foi deixada de lado na época (Van Goietsenoven *et al*, 2013; Van Goietsenoven *et al*, 2010), porém recentemente retomada por grupos de pesquisadores, em busca de mudanças estruturais que diminuíssem sua toxicidade e aumentassem sua solubilidade em água (Van Goietsenoven *et al*, 2013; Evidente *et al*, 2009). Seu mecanismo de ação está envolvido com a inibição da síntese proteica, devido a sua ligação com a subunidade 60S no ribossomo (Van Goietsenoven *et al*, 2013), na organização do citoesqueleto de actina, e também nas vias de sinalização que controlam a organização do mesmo (Lefranc *et al*, 2009). A pancratistatina parece ter um mecanismo de ação citotóxico, induzindo apoptose em células de neuroblastoma humano SHSY-5Y. Nestas, a pancratistatina é capaz de elevar a produção de EROs e em adição aumenta a permeabilidade da membrana mitocondrial, causando uma disfunção e levando à apoptose (Van Goietsenoven *et al*, 2013).

IV. Piplartina (Piperlongumina):

É um alcaloide/amida, de estrutura 5,6-dihidro-1-[(2E)-1-oxo-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-2-propenil]-2(1H)-piridinona, encontrado nas plantas do gênero *Piper*, como, por exemplo, a pimenta longa (*Piper longum* L.) (Wang *et al*, 2014). Seu uso é relatado há milhares de anos pela medicina Ayurvédica, para o tratamento de doenças respiratórias e gastrintestinais (Liu *et al*, 2014). Dentre suas atividades farmacológicas estão leishmanicida, atividade ansiolítica e antidepressiva, antiagregante plaquetária (Bezerra *et al*, 2012). Os estudos das atividades da piplartina começaram na década de 1990 (Wang *et al*, 2014) e esta droga ainda desperta o interesse de pesquisadores para elucidar seu mecanismo de ação. Raj e colaboradores (2011) demonstram, com seu estudo, que o tratamento com piplartina induz morte celular/apoptose seletivamente em várias linhagens de câncer, como osteossarcoma, câncer de mama e de cólon, mas não em células normais, modulando a expressão de membros de vias de sinalização de sobrevivência e apoptose, como as proteínas p53 e Bcl-2. Mostram também que a atividade citotóxica está associada a uma diminuição de GSH (glutationa na forma reduzida) e aumento da GSSG (glutationa na forma oxidada), pela propriedade da piplartina de se ligar a enzima GSTpi (Glutationa-S Transferase pi), responsável pela regulação do estresse oxidativo. Somado a isso, o fato de a piplartina ser um alcaloide lipofílico, esta é capaz de atravessar a barreira hemato-encefálica (Liu *et al*, 2014), e, portanto, pode ser promissora no tratamento de gliomas. Liu e colaboradores (2014) analisaram o efeito deste alcaloide nas linhagens de glioma LN229, U87 MG, 8MG BA. Seus resultados mostram que a piplartina tem efeitos citotóxicos nas três linhagens. Há um aumento do número de células com núcleo condensado, um indicativo de morte celular por apoptose, corroborado pelo experimento com citometria de fluxo com co-marcação com Iodeto de Propídio e Anexina V. Seus resultados também corroboram com o que foi mostrado por Raj *et al* (2011), que a piplartina é capaz de exacerbar o acúmulo de espécies reativas de oxigênio intracelular, bem como diminuir a GSH, prejudicando a regulação do estresse oxidativo. Foram estudadas também duas proteínas de sinalização ativadas por EROs, a JNK e p38, cujos níveis de ambas proteínas fosforiladas aumentaram com o tratamento, com aumento da expressão de p-JNK mais proeminente em LN229 e de p-p38 mais proeminente em U87, mostrando que as linhagens tem diferenças entre si. Experimentos realizados

com a co-incubação com um antioxidante, mostram que este é capaz de inibir o efeito citotóxico da piplartina nas linhagens de glioma, diminuindo as EROs, bem como a expressão de JNK e p38 nas formas fosforiladas, mostrando que a ativação de ambas as proteínas é dependente de EROs. A incubação com inibidores de JNK e p38 diminui a morte celular, mas não o acúmulo de EROs. O estudo mostrou também que a piplartina não teve efeito sobre ERK e Akt (Liu *et al*, 2014).

Quanto à relação estrutura-atividade, Adams e colaboradores (2012) demonstraram que a eletrofilicidade da dupla ligação entre C1-C2 na molécula da piplartina é essencial para sua atividade citotóxica, bem como a ligação dupla entre C7-C8. Além disso, verificou-se que dímeros da molécula, unidos através de uma ligação éter no grupo alcoxi em C12 tem a potência aumentada em relação à viabilidade celular cerca de 20 vezes em relação à própria piplartina (Adams *et al*, 2012).

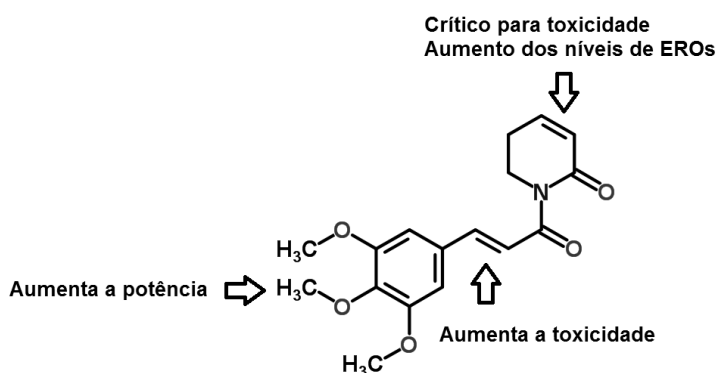
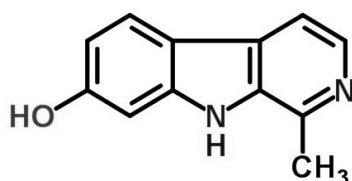


FIGURA 4. Relação Estrutura-Atividade da Piperlongumina. Adaptado de Boskovic *et al* (2013).

V. Harmol:

Este alcaloide indólico β -carbolínico de estrutura 1-metil-9H-pirido[3,4-b]indol-7-ol tem uma distribuição diversificada, podendo ser encontrado em plantas, vinhos, fumaça de cigarro e tecidos de mamíferos. Nas plantas, é encontrado nas famílias *Passifloraceae*, *Malpighiaceae*, *Zygophyllaceae*, entre outras (Moura *et al*, 2008). Dentre as pesquisas que demonstram sua atividade antitumoral contra gliomas, Abe e Kokuba (2013) estudaram o efeito deste

alcaloide sobre a linhagem de glioma humano U251-MG, a fim de elucidar seu mecanismo de ação. Em seu estudo, então, comprovaram que o harmol inibe a proliferação celular nessa linhagem. O harmol é capaz de aumentar o número de autofagossomos, e aumentar a expressão da proteína LC3 II, essencial para a formação dos mesmos e dos fagolisossomos. Corroborando os primeiros achados, experimentos com inibidores de autofagia em seus estágios iniciais, mostraram diminuição da expressão de LC3 II, e em seus estágios finais não impediram o acúmulo desta proteína, e, que mesmo com a autofagia inibida, ocorre apoptose. Apenas após 36 horas de tratamento com o harmol, observa-se aumento das caspases 3 e 9, aumento da clivagem de PARP, e supressão da expressão das proteínas p-Akt, p-mTOR e survivina. Observa-se então, que este alcaloide é capaz de induzir autofagia e subsequente apoptose nas células da linhagem de glioma U251-MG (Abe, Kokuba, 2013). A supressão da survivina pode estar relacionada à inibição da proteína Haspin cinase (Haploid Germ Cell-Specific Nuclear Protein Kinase, também conhecida como Germ Cell Specific Gene-2; Gsg2), envolvida na mitose e relacionada à sobrevivência (Cuny *et al*, 2012).



Harmol

FIGURA 5. Estrutura química do Harmol.

VI. Metilxantinas:

São pseudo-alcaloides, derivadas de bases púricas, constituintes de várias bebidas alimentícias ou estimulantes não-alcoólicas, e possuem diversas atividades farmacológicas (Rates, 2003). São conhecidas por serem inibidoras de adenosina-monofosfato fosfodiesterase e aumentar concentrações intracelulares de cAMP (Sugimoto, 2014). Dentre elas temos:

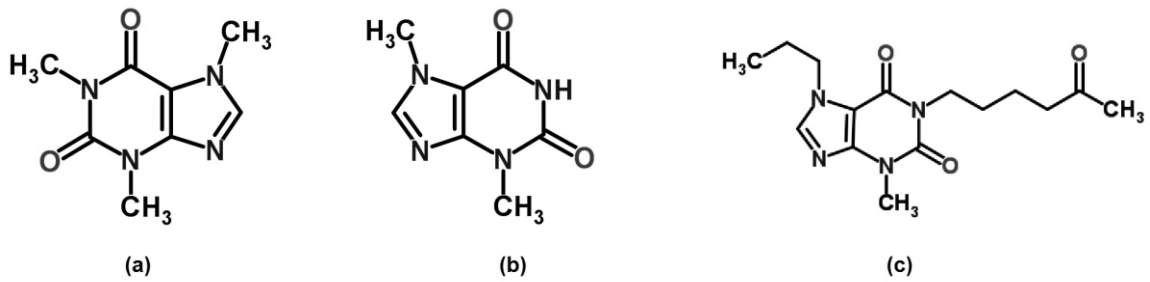


FIGURA 6. Estruturas das metilxantinas abordadas neste estudo. (a) Cafeína, (b) Teobromina e (c) Propentofilina.

a) Cafeína:

Substância neuroativa mais consumida no mundo (Rates, 2003). Seus mecanismos de ação estão envolvidos com apoptose e supressão da proliferação celular. Na linhagem U87MG, de uma maneira dose e tempo-dependente, a cafeína é capaz de reduzir a viabilidade celular, diminuir a síntese de DNA, provocar parada do ciclo celular em G₀/G₁, diminuir a fosforilação da proteína Rb, aumentar a clivagem de caspase-3 e PARP, na concentração de 5 μ M. Em uma maior concentração, 20 μ M, a cafeína diminui a formação de colônias de células em cultura após duas semanas, induzindo a expressão de p21, aumentando a fosforilação de GSK3 β . *In vivo*, em um modelo de xenoenxerto, o tratamento mostrou que a cafeína também é capaz de induzir a fosforilação de p21 e de GSK3 β , e aumento do índice de apoptose (Ku *et al*, 2011). Em outro estudo, mostra-se que a cafeína induz sensibilização à radioterapia em linhagens de gliomas com deficiência de PTEN (U87MG), mas não em linhagens não deficientes (EA14, astrocitoma anaplásico grau III), e esta sensibilização é independente da expressão de p53. Além disso, a cafeína tem como alvo a via de sinalização PI3K/Akt, diminuindo a expressão da p-Akt (Sinn *et al*, 2010).

b) Teobromina:

Derivada da cafeína, está presente em produtos da *Theobroma cacao* (Rates, 2003). Em um estudo de Sugimoto e colaboradores (2014), em um modelo de glioma *in vitro* com a linhagem U87MG, a Teobromina inibe a proliferação das

células de uma maneira dose-dependente. Aumenta cAMP intracelular. Provoca mudanças na morfologia celular. Diminui fosforilação de ERK, de Akt e mTOR, reduzindo a proliferação celular e sobrevivência e ainda aumenta a fosforilação de p38 e JNK, proteínas que são ativadas por várias formas de estresse que induzem apoptose (Sugimoto *et al*, 2014).

c) Propentofilina (PPF):

Metilxantina sintética de estrutura (1-[5-oxo-hexil]-3-metil-7-propilxantina) (Jacobs *et al*, 2012a). Atualmente utilizada em cães (Revimax®) como vasodilatador (<http://www.agener.com.br/arquivos/revimax.pdf>), também é inibidor do cAMP, e da GMP cíclico fosfodiesterase (Jacobs *et al*, 2012). Sabe-se que funciona como um modulador glial com ação direta na microglia. Jacobs e colaboradores (2012), estudaram essa metilxantina em modelos *in vitro* e *in vivo* de glioblastoma com a linhagem CNS-1, que possui características invasivas e histopatológicas semelhantes a glioblastomas humanos. Em culturas de microglia, a PPF foi capaz de fazer com que essas células migrassem mais lentamente, sem causar morte celular. Co-culturas da linhagem CNS-1 e microglia são afetadas pelo tratamento com PPF, um dos mecanismos é a diminuição da MMP-9, expressa apenas pela microglia. *In vivo*, PPF mostrou-se capaz de diminuir o tamanho tumoral em um modelo de glioma de ratos (Jacobs *et al*, 2012a). Outro estudo do mesmo grupo mostra que co-culturas de microglia expressam a proteína TROY apenas na presença da linhagem CNS-1, e que proteínas como p-JNK também estão superexpressas nessas culturas e são subsequentes a TROY. Em modelo *in vivo*, os tumores também superexpressam TROY. O tratamento com a PPF é capaz de diminuir a expressão de TROY *in vitro* e *in vivo*, bem como das proteínas subsequentes à TROY, nesta via de sinalização (Jacobs *et al*, 2012b).

VII. Alcaloides marinhos:

Nas últimas décadas, o interesse em moléculas bioativas derivadas de animais marinhos aumentou. Uma dessas moléculas, a trabectedina (ecteinascidina-743, ET-743, Yondelis[®]), um alcaloide tetraidroquinolínico semi-sintético, foi aprovada em 2007 para o tratamento de sarcomas de tecidos moles e câncer de ovário (Felício, Oliveira, Deboni, 2012). É um agente alquilante que causa uma dobra no DNA, e conseqüentemente, desorganização do citoesqueleto, bloqueio da divisão celular e interfere no reconhecimento e ligação de fatores de transcrição ou proteínas ligantes ao DNA, causando ativação ou inibição de determinados genes, um deles responsável pela expressão da glicoproteína-P, associada ao efluxo de agentes quimioterápicos, e portando, resistência (Costa-Lotufo *et al*, 2009). Um estudo recente avaliou o perfil molecular da linhagem de glioma humano U373 após o tratamento com três alcaloides da mesma classe da trabectedina, a ecteinascidina-770 (ET-770), seu derivado e a renieramicina M. Os três alcaloides tem efeito antitumoral em concentrações nanomolares, e seu mecanismo de ação está relacionado com a indução de apoptose, através do aumento da clivagem de PARP e de caspase-3. O perfil molecular da linhagem revela que os tratamentos têm impacto na expressão gênica e, em comum, 196 genes são suprimidos e 6 tem expressão aumentada pelos três alcaloides, sugerindo uma via molecular envolvendo apoptose induzida pelas três moléculas estudadas. Apesar disso, outros genes não comuns são suprimidos ou superexpressos pelos tratamentos isolados e, portanto, cada molécula é capaz de induzir apoptose por outras vias de sinalização. O composto ET-770 e seu derivado também exibem ação alquilante, com um mecanismo semelhante à trabectedina (Tabunoki *et al*, 2012).

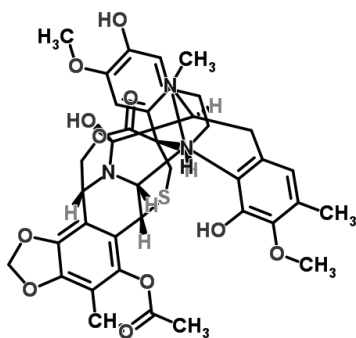


FIGURA 7. Estrutura química da Trabectedina.

Outros alcaloides não detalhados no estudo, tem diferentes mecanismos de ação antitumoral frente a gliomas. A ciclopamina tem efeito inibidor sobre a via de sinalização Hedgehog, e inibição de Células-Tronco Tumorais (Lee *et al*, 2014; Braun *et al*, 2012; Heretsch *et al*, 2010), um subgrupo dos alcaloides β -carbolínicos, as cantin-6-onas e seus derivados, também têm efeito sobre estas células-tronco (Cebrián-Torrejón *et al*, 2012). A Noscapina se liga à tubulina e afeta a migração sobre células endoteliais, importantes na angiogênese dos tumores (Jhaveri *et al*, 2011), este último efeito também está presente na vinflunina, um derivado dos alcaloides da Vinca (Boskovic *et al*, 2013), e tem efeito sinérgico com os quimioterápicos aprovados pelo FDA (Food and Drug Administration, Estados Unidos) no tratamento de gliomas, em um modelo de xenoenxerto (Qi *et al*, 2013). A paxilina, um alcaloide oriundo de microrganismos, tem efeito pró-apoptótico em linhagens de glioma (Kang *et al*, 2011), já a evodiamina induz autofagia (Liu *et al*, 2013).

Em um *screening* com as drogas aprovadas pelo FDA em 2012, há os seguintes alcaloides que apresentaram atividade antitumoral frente a gliomas.: homoharringtonina, topotecan e vindesina (Jiang *et al*, 2014). Estudos de fase II com irinotecan e bevacizumab mostram crescente interesse no uso deste alcaloide em combinação para o tratamento de glioblastomas primários ou recorrentes (Møller *et al*, 2012; Reardon *et al*, 2012; Hasselbalch *et al*, 2010).

DISCUSSÃO

O presente estudo levou em consideração 38 trabalhos científicos pesquisados nas bases citadas da metodologia que elucidavam o mecanismo de ação antitumoral de alcaloides frente a gliomas. Destes trabalhos, 11 mostravam pesquisas com alcaloides da família das Amarilidáceas, sendo 7 sobre a licorina, 2 sobre a narciclasina, um sobre a bulbispermina e um sobre a pancratistatina. Pesquisas com a piperlongumina resultaram em 4 trabalhos encontrados, e com o harmol 3 pesquisas. Sobre a boldina, foram 2 trabalhos encontrados, ambos desenvolvidos em nosso laboratório de pesquisa, mesmo número de trabalhos encontrados com a berberina. Dentre as metilxantinas, 2 trabalhos eram sobre a cafeína, mesmo número que a propentofilina, e um trabalho sobre a teobromina. Sobre alcaloides marinhos, apenas um trabalho foi encontrado. Os outros alcaloides que apenas foram mencionados nesta revisão, resultaram em mais 10 trabalhos encontrados, perfazendo um total de 27 alcaloides já pesquisados por apresentarem efeito antineoplásico sobre gliomas.

Analisando os dados encontrados, percebe-se que apesar de compartilharem semelhanças estruturais, muitos dos alcaloides citados possuem diferentes mecanismos de ação. Observa-se isso comparando os alcaloides da família das Amarilidáceas. Enquanto a bulbispermina e a licorina compartilham o mesmo mecanismo de ação, a narciclasina e pancratistatina apresentam apenas uma pequena diferença estrutural e, provavelmente devido a isto, seus mecanismos de ação são diferentes. Já as metilxantinas cafeína e teobromina, também muito semelhantes em suas estruturas, possuem mecanismos de ação em comum.

Dentre os alcaloides citados, e levando em consideração os estudos realizados até a presente revisão, alguns podem ser classificados como citostáticos, por serem capazes de induzir parada na proliferação celular; alguns podem ser ditos citotóxicos por desencadearem morte celular; outros, podem apresentar os dois mecanismos (citostáticos e citotóxicos), e ainda, para um deles, a Propentofilina, o mecanismo não é diretamente sobre as células tumorais. Uma sugestão de classificação dos alcaloides pode ser vista na Tabela II.

TABELA II. Mecanismos de ação dos alcaloides considerados neste estudo.

Citostáticos	Citotóxicos	Ambos
Licorina	Pancreatistatina	Berberina
Bulbispermina	Piperlongumina	Boldina
Narciclasina	Harmol	Cafeína
	Alcaloides marinhos	Teobromina

Observa-se que, entre os alcaloides com ação citostática, os três pertencem à família das Amarilidáceas, e, portanto, dividem semelhanças estruturais. Como já mencionado, a licorina, bulbisperpina e narciclasina possuem ação sobre o citoesqueleto de actina. A capacidade que estas moléculas têm de polimerizar a actina causa uma maior rigidez no citoesqueleto, diminuindo a flexibilidade necessária para a alta taxa de proliferação e migração celular (Lamoral-Theys *et al*, 2009). O citoesqueleto de actina controla várias funções celulares, incluindo a morfologia celular, movimento e crescimento. A narciclasina também tem ação sobre a síntese proteica.

Os alcaloides citotóxicos são aqueles que causam morte em células não tumorais, e dentre os estudados, todos desencadeiam morte por apoptose. São eles: pancreatistatina, piperlongumina e os alcaloides marinhos. Apenas um, o harmol, causa morte celular por dois mecanismos, autofagia e apoptose. A teobromina, cafeína e berberina, citostáticas e citotóxicas também levam a este tipo de morte.

A apoptose é um tipo de morte celular programada que envolve contração e fragmentação do núcleo e da célula sem ruptura da membrana celular, isto previne inflamação no tecido adjacente (Grivicich, Regner, Rocha, 2007). A evasão à apoptose é uma das características mais marcantes de células tumorais, como também autossuficiência de estímulos de crescimento (Krakstad, Chekenya, 2010).

Uma das vias centrais na regulação da sobrevivência e supressão da apoptose é a via da PI3K/Akt. A proteína Akt (PKB), que é fosforilada pela PI3K, na sua forma ativa, é, então, capaz de ativar ou inativar várias outras proteínas que acabam por aumentar a expressão de genes responsáveis pela proliferação e sobrevivência celular (Krakstad, Chekenya, 2010). Na maioria dos gliomas, há mutação do gene PTEN, um supressor tumoral, que regula negativamente a proteína PI3K (Jiang, Uhrbom, 2012). Os alcaloides harmol e teobromina agem diretamente sobre Akt, diminuindo sua forma fosforilada, e, portanto, regulando negativamente a via da PI3K/Akt. O harmol age sobre essa via inibindo a survivina, já a cafeína é capaz de aumentar a expressão de PTEN.

A cascata de sinalização PI3K/Akt também está envolvida na regulação da GSK3 β ; uma vez a Akt ativada, esta poderá fosforilar a GSK-3 β e torná-la inativa. GSK-3 β é uma proteína pró-apoptótica capaz de regular indiretamente os níveis de survivina, envolvida na proliferação celular (McCubrey *et al*, 2014). Observa-se um efeito de diminuição da fosforilação da proteína GSK3 β , induzido pelo tratamento com a cafeína.

O gene supressor de tumor TP53, regulador da integridade do genoma frente a danos celulares, está geralmente mutado ou inativado em gliomas (Krakstad, Chekenya, 2010). Este codifica a proteína p53 que participa do ponto de checagem em G1. Mutações no gene p53 resultam em um descontrole deste ponto, possibilitando que células danificadas progridam para a fase S sem reparar as lesões, ou entrar em apoptose (Grivicich, Regner, Rocha, 2007). A p53 é capaz de ativar a p21, proteína reguladora da progressão da fase G1 para S no ciclo celular, controlar a fosforilação do complexo molecular ativo ciclina-CDK, interrompendo o ciclo celular caso haja danos no DNA, e regular a expressão de Bcl-2, inativando-a para levar a célula a apoptose se os danos ao DNA não forem passíveis de reparo (Grivicich, Regner, Rocha, 2007). A piperlongumina é capaz de agir sobre a p53, já os antitumorais que formam ligações com o DNA, impedindo seu reparo durante o ciclo celular, são a berberina e os alcaloides marinhos ET-770 e seu derivado.

A Bcl-2 é uma família de proteínas que participa ativamente na regulação da apoptose. Membros como Bcl-2, inibem a apoptose, por outro lado, Bax é uma

proteína pró-apoptótica. A expressão de Bcl-2, influenciada indiretamente pela via PI3K/Akt, é capaz de inibir a geração de espécies reativas do oxigênio e a acidificação intracelular, bem como estabilizar o potencial de membrana da mitocôndria. Já tanto os estímulos apoptóticos por outras proteínas da família Bcl-2, quanto o aumento da produção de EROs, levam a uma disfunção da membrana mitocondrial, que libera fatores pró-apoptóticos para o citoplasma, ativando Caspases e levando à apoptose (Grivicich, Regner, Rocha, 2007). O aumento da produção de EROs e disfunção mitocondrial, pode ser induzido pelos alcaloides berberina e piperlongumina, esta última também age sobre a proteína Bcl-2, diminuindo sua expressão. A clivagem de procaspases e de PARP, proteínas cuja clivagem é indicativa de apoptose, é aumentada pelo tratamento com os alcaloides marinhos, pela cafeína e pelo harmol.

Além da apoptose, o outro mecanismo de morte celular que pode ser induzido pelo tratamento com alcaloides, e neste trabalho cita-se o alcaloide β -carbolínico harmol, é a autofagia. Autofagia envolve a formação de autofagossomos em volta de macromoléculas celulares, estes se fundem com lisossomos, onde seu conteúdo interno é degradado. A proteína LC3 II está envolvida em algumas fases da autofagia e é utilizada para o monitoramento da mesma (Kimmelman, 2010). A autofagia é induzida por várias vias de sinalização mediadas por estresse celular, a tradução destes múltiplos sinais é feito pela proteína mTOR, que age como um inibidor central da autofagia (He, Klionsky, 2009). A atividade de mTOR é regulada pela via de sinalização PI3K/Akt, em resposta aos estímulos que a célula recebe e pela expressão de PTEN, regulador negativo da via PI3K/Akt, e portanto, regulador negativo também de mTOR, induzindo autofagia. A proteína p53 também está envolvida indiretamente na regulação de mTOR (Balaburski, Hontz, Murphy, 2010). A autofagia tem um duplo papel em tumores, enquanto a inibição da autofagia pode aumentar a tumorigênese, esta também é importante na manutenção de tumores, visto que em regiões sob estresse, como hipóxia, há uma elevada taxa de autofagia que leva à progressão tumoral (Kimmelman, 2010).

Alguns dos alcaloides citotóxicos citados, também são considerados citostáticos, pois induzem parada no ciclo celular. Dentre os alcaloides que

apresentam essa característica, estão a boldina, berberina e cafeína. O ciclo celular é influenciado por vários fatores exógenos e regulado por proteínas quinases dependentes de ciclinas e a formação ou não de complexos destas com suas reguladoras, as ciclinas (Malumbres, Barbacid, 2009). As fases sequenciais do ciclo celular são: G1, S, G2 e M. A fase G1 é o momento onde a célula inicia a síntese proteica necessária para a fase seguinte e aumenta sua massa para suportar a divisão. A fase S é quando ocorre a duplicação do DNA. Após, a célula entra em fase G2 para sintetizar proteínas importantes para a organização da cromatina e mitose. Segue-se então a fase M, onde ocorre a mitose (Williams, Stoeber, 2009). De acordo com os estudos, tanto boldina como berberina são capazes de induzir parada em G2/M do ciclo, já cafeína induz parada em G0/G1.

A teobromina também é um alcaloide apontado como citostático, pois ela é capaz de interferir na proteína ERK. A via de sinalização MAPK/ERK, geralmente está superexpressa em tumores. A ERK ativa, na sua forma fosforilada, pode ativar alvos citoplasmáticos ou nucleares que regulam a proliferação celular e sobrevivência (Balmanno, Cook, 2009), como por exemplo, as proteínas da família da Bcl-2 já citadas acima. A metilxantina teobromina, é capaz de inibir esta proteína, e, portanto, inibir a proliferação celular.

Outro alvo de antitumorais é a microglia, e neste estudo cita-se a propentofilina. Sabe-se que a microglia é muito importante na manutenção, progressão e invasão tumoral. Os tumores recrutam as células da microglia e os macrófagos do SNC pela secreção de vários fatores. Sua coexistência se dá através do estímulo que um induz ao outro (Fonseca, Badie, 2013). A microglia também expressa a proteína TROY, em resposta ao glioma, que regula o recrutamento das células da microglia para o tumor, e indiretamente estimula a migração e invasão das células tumorais (Paulino *et al*, 2010).

A importância dos alcaloides como antitumorais pode ser visualizada na história e no seu atual uso e pesquisa. Enquanto os alcaloides naturais provêm de muitas fontes diferentes e, portanto tem estruturas e mecanismos diferentes, levando a novas descobertas e novos alvos no tratamento do câncer, os

alcaloides sintéticos levam a uma otimização e podem ser novas drogas potenciais. Estudos mostram que a adição de esqueletos de alcaloides em outras drogas pode levar a um aumento da potência das mesmas (Kittakoop, Mahidol, Ruchirawat, 2014).

A descoberta de novas drogas que possam diminuir a morbidade e a mortalidade dos gliomas é necessária. Devido ao exposto nesta revisão, pudemos perceber que a classe dos alcaloides se mostra uma fonte muito rica de potenciais drogas, e desta forma, podem vir a ser utilizadas para o desenvolvimento de novos fármacos para tratamento dos gliomas, uma doença que, infelizmente até os dias atuais, permanece incurável.

Lista de Acrônimos: **PARP**: poli difosfato de adenosina-ribose polimerase; **Bcl-2**: Célula B de Linfoma 2; **CDK**: quinase dependente de ciclina; **mTOR**: proteína alvo da rapamicina em mamíferos; **JNK**: c-Jun N-terminal quinase; **ERK**: quinase regulada por sinais extracelulares; **Akt**: proteína quinase B (PKB); **PI3K**: fosfatidilinositol-3 quinase; **LC3 II**: cadeia leve-3 da proteína associada a microtúbulos; **cAMP**: monofosfato de adenosina cíclico; **MMP-9**: metaloproteinase de matriz 9; **Rb**: proteína retinoblastoma; **GSK-3 β** : glicogênio sintase quinase 3 β ; **PTEN**: homólogo fosfatase e tensina deletado do cromossomo 10; **TROY**: receptor de fator de necrose tumoral de embrião de rato.

REFERÊNCIAS:

ABD EL-WAHAB, A.E.; GHAREEB, D.A.; SARHAN, E.E.; ABU-SERIE, M.M.; EL DEMELLAWY, M.A. In vitro biological assessment of berberis vulgaris and its active constituent, berberine: antioxidants, anti-acetylcholinesterase, anti-diabetic and anticancer effects. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 13:218, 2013.

ABE, A.; KOKUBA, H. Harmol induces autophagy and subsequent apoptosis in U251MG human glioma cells through the downregulation of survivin. *Oncology Reports* 29: 1333-1342, 2013.

ADAMS, D.J.; DAI, M.; PELLEGRINO, G.; WAGNER, B.K.; STERN, A.M.; SHAMJI, A.F.; SCHREIBER S.L. Synthesis, cellular evaluation, and mechanism of action of piperlongumine analogs. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 109(38):15115-20, 2012.

ALMEIDA, V.L.; LEITÃO, A.; REINA, L.C.B.; MONTANARI, C.A.; DONNICII, CL; LOPES, M.T.P. Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo celular não específicos que interagem com o DNA: uma introdução. *Quim. Nova*, Vol 28, No 1, 118-129, 2005.

AMERICAN CANCER SOCIETY. Cancer Facts & Figures 2014. Atlanta: *American Cancer Society*, 2014 (www.cancer.org).

ANDOLFI, A.; VAN GOIETSENOVEN, G.; CIMMINO, A.; LE CALVÉ, B.; WAUTHOZ, N.; MÉGALIZZI, V.; GRAS, T.; BRUYÈRE, C.; DUBOIS, J.; MATHIEU, V.; KORNIENKO, A.; KISS, R.; EVIDENTE, A. Lycorine, the Main Phenanthridine Amaryllidaceae Alkaloid, Exhibits Significant Anti-Tumor Activity in Cancer Cells that Display Resistance to Proapoptotic Stimuli: an Investigation of Structure-Activity Relationship and Mechanistic Insight. *J Med Chem.* 52(20): 6244–6256, 2009.

BALABURSKI, G.M.; HONTZ, R.D.; MURPHY, M.E. p53 and ARF: unexpected players in autophagy. *Trends Cell Biol* 20: 363–369, 2010.

BALMANNO, K.; COOK, S.J. Tumour cell survival signalling by the ERK1/2 pathway. *Cell Death Differ.* 16(3):368-77, 2009.

BARREIRO, E.J. Produtos Naturais Bioativos de Origem Vegeral e o Desenvolvimento de Fármacos. *Química Nova* 13(1), 1990.

BEZERRA, D.P.; PESSOA, C.; MORAES, M.O.; SAKER-NETO, N.; SILVEIRA, E.R.; COSTA-LOTUFO, L.V. Overview of the therapeutic potencial of piplartine (piperlongumine). *Eur J Pharm Sci.* 48(3):453-463, 2012.

BOSKOVIC, Z.V.; HUSSAIN, M.M.; ADAMS, D.J.; DAI, M.; SCHREIBER, S.L. Synthesis of piperlogs and analysis of their effects on cells. *Tetrahedron* 69, 2013.

BRANDÃO, H.; DAVID, J.P.; COUTO, R.D.; NASCIMENTO, J.A.P. Química e Farmacologia de Quimioterápicos Antineoplásicos Derivados de Plantas. *Quim. Nova*, Vol. 33, No. 6, 1359-1369, 2010.

BRAUN, S.; OPPERMANN, H.; MUELLER, A.; RENNER, C.; HOVHANNISYAN, A.; BARAN-SCHMIDT, R.; GEBHARDT, R.; HIPKISS, A.; THIERY, J.; MEIXENSBERGER, J.; GAUNITZ, F. Hedgehog signaling in glioblastoma multiforme. *Cancer Biology & Therapy* 13:7, 487-495, 2012.

BUTLER, M.S. Natural products to drugs: natural product-derived compounds in clinical trials. *Nat. Prod. Rep.* 25, 475, 2008.

CAO, Z.; YU, D.; FU, S.; ZHANG, G.; PAN, Y.; BAO, M.; TU, J.; SHANG, B.; GUO, P.; YANG, P. Lycorine hydrochloride selectively inhibits human ovarian cancer cell proliferation and tumor neovascularization with very low toxicity. *Toxicol. Lett.* 218, 174–185, 2013.

CEBRIÁN-TORREJÓN, G.; KAHN, S.A.; FERREIRA, M.E.; THIRANT, C.; ARIAS, A.R.; FIGADÈRE, B.; FOURNET, A.; CHNEIWEISS, H.; POUPON, E. Alkaloids from Rutaceae: activities of canthin-6-one alkaloids and synthetic analogues on glioblastoma stems cells. *Med. Chem. Commun.*, 3, 771-774, 2012.

CHEN, T.C.; LAI, K.C.; YANG, J.S.; LIAO, C.L.; HSIA, T.C.; CHEN, G.W.; LIN, J.J.; LIN, H.J.; CHIU, T.H.; TANG, Y.J.; CHUNG, J.G. Involvement of reactive oxygen species and caspase-dependent pathway in berberine-induced cell

cycle arrest and apoptosis in C6 rat glioma cells. *International Journal of Oncology* 34: 1681-1690, 2009.

COSTA-LOTUFO, L.F.; WILKE, D.V.; JIMENEZ, P.C.; EPIFANIO R.A. Organismos marinhos como fonte de novos fármacos: Histórico & perspectivas. *Quim. Nova*, Vol. 32, No. 3, 703-716, 2009.

CUNY, G.D.; ULYANOVA, N.P.; PATNAIK, D.; LIU, J.F.; LIN, X.; AUERBACK, K.; RAY, S.S.; XIAN, J.; GLICKSMAN, M.A.; STEIN, R.L.; HIGGINS, J.M. Structure-activity relationship study of beta-carboline derivatives as haspin kinase inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett.* 22(5): 2015–2019, 2012.

DAI, C.; HOLLAND, E.C. Glioma models. *Biochim Biophys Acta* 1551:19-27, 2001.

EOM, K.S.; KIM, H.J.; SO, H.S.; PARK, R.; KIM, T.Y. Berberine-Induced Apoptosis in Human Glioblastoma T98G Cells Is Mediated by Endoplasmic Reticulum Stress Accompanying Reactive Oxygen Species and Mitochondrial Dysfunction. *Biol. Pharm. Bull.* 33(10) 1644—1649, 2010.

EVDOKIMOV, N.M.; LAMORAL-THEYS, D.; MATHIEU, V.; ANDOLFI, A.; FROLOVA, L.V.; PELLY, S.C.; VAN OTTERLO, W.A.; MAGEDOV, I.V.; KISS, R.; EVIDENTE, A.; KORNIENKO, A. In Search of a Cytostatic Agent Derived from the Alkaloid Lycorine: Synthesis and Growth Inhibitory Properties of Lycorine Derivatives. *Bioorg Med Chem.* 19(23): 7252–7261, 2011.

EVIDENTE A.; KIREEV, A.S.; JENKINS, AR.; ROMERO, A.E.; STEELANT, W.F.; VAN SLAMBROUCK, S.; KORNIENKO, A. Biological Evaluation of Structurally Diverse Amaryllidaceae Alkaloids and their Synthetic Derivatives: Discovery of Novel Leads for Anticancer Drug Design. *Planta Med.* 75(5): 501–507, 2009.

FELÍCIO, R.; OLIVEIRA, A.L.L.; DEBONSI, H.M. Bioprospecção a partir dos oceanos: conectando a descoberta de novos fármacos aos produtos naturais marinhos. *Cienc. Cult.* vol.64 no.3 São Paulo, 2012.

FONSECA, A.C.C.; BADIE, B. Microglia and Macrophages in Malignant Gliomas: Recent Discoveries and Implications for Promising Therapies. *Clin Dev Immunol* 25;2013:264124, 2013.

GERHARDT, D.; BERTOLA, G.; BERNARDI, A.; SIMÕES PIRES, E.N.; FROZZA, R.L.; EDELWEISS, M.I.A.; BATTASTINI, A.M.O.; SALBEGO, C.G. Boldine Attenuates Cancer Cell Growth in an Experimental Model of Glioma In vivo. *J Cancer Sci Ther* 5: 194-199, 2013.

GERHARDT, D.; HORN, A.P.; GAELZER, M.M.; FROZZA, R.L.; DELGADO-CAÑEDO, A.; PELEGRINI, A.L.; HENRIQUES, A.T.; LENZ, G.; SALBEGO, C.G. Boldine: a potential new antiproliferative drug against glioma cell lines. *Investigational New Drugs* 12-01, 2009.

GODUGU, C.; PATEL, A.R.; DODDAPANENI, R.; SOMAGONI, J.; SINGH, M. Approaches to Improve the Oral Bioavailability and Effects of Novel Anticancer Drugs Berberine and Betulinic Acid. *PLoS ONE* 9(3): e89919, 2014.

GONZALEZ-CABELLO,R.; SPEISKY, H.; BANNACH, R.; VALENZUELA, A.; FEHER. J.; GERGELY, P. Effects of boldine on cellular immune functions in vitro. *J Invest Allergol Clin Immunol.* 4:139-145, 1994.

GRIVICICH, I.; REGNER, A.; ROCHA, A.B. Apoptosis: Programmed Cell Death. *Revista Brasileira de Cancerologia* 53(3): 335-343, 2007.

HAO, B.; SHEN, S.F.; ZHAO, Q.J. Cytotoxic and Antimalarial Amaryllidaceae Alkaloids from the Bulbs of *Lycoris radiata*. *Molecules* 18, 2458-2468, 2013.

HARVEY, A.L. Natural products in drug discovery. *Drug Discov. Today* 13, 894, 2008.

HASSELBALCH, B.; LASSEN, U.; HANSEN, S.; HOLMBERG, M.; SØRENSEN, M.; KOSTELJANETZ, M.; BROHOLM, H.; STOCKHAUSEN, M.T.; POULSEN, H.S. Cetuximab, bevacizumab, and irinotecan for patients with primary glioblastoma and progression after radiation therapy and temozolomide: a phase II trial. *Neuro-Oncology* 12(5):508–516, 2010.

HE, C.; KLIONSKY, D.J. Regulation mechanisms and signaling pathways of autophagy. *Annu Rev Genet.* 43:67–93, 2009.

HENRIQUES, A.T.; LIMBERGER, R.P.; KERBER, V.A.; MORENO P.R.H. Alcaloides: Generalidades e Aspectos Básicos. *In: Farmacognosia da planta ao medicamento* (Simoes CMO; Schenkel EP; Gosmann G; Mello JCP; Mentz LA; Petrovick PR (Org.)). 5a ed. rev. ampl. Porto Alegre: Editora da UFRGS, Florianópolis: Editora da UFSC, 2003.

HERETSCH, P.; TZAGKAROULAKI, L.; GIANNIS, A. Cyclopamine and Hedgehog Signaling: Chemistry, Biology, Medical Perspectives. *Angew. Chem. Int. Ed.* 49, 2–12, 2010.

INCA/MINISTÉRIO DA SAÚDE. Estimativa 2014: Incidência de Câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2014. (www.inca.gov.br).

JACOBS, V.L.; LANDRY, R.P.; LIU, Y.; ROMERO-SANDOVAL, E.A.; DE LEO, J.A. Propentofylline decreases tumor growth in a rodent model of glioblastoma multiforme by a direct mechanism on microglia. *Neuro-Oncology* 14(2):119–131, 2012a.

JACOBS, V.L.; LIU, Y.; DE LEO, J.A. Propentofylline Targets TROY, a Novel Microglial Signaling Pathway. *PLoS ONE* 7(5): e37955, 2012b.

JHAVERI, N.; CHO, H.; TORRES, S.; WANGB, W.; SCHÖNTHAL, A.H.; PETASIS, N.A.; LOUIE, S.G.; HOFMAN, F.M.; CHEN, T.C. Noscipine inhibits tumor growth in TMZ-resistant gliomas. *Cancer Letters* 312, 245–252, 2011.

JIANG, P.; MUKTHAVAVAM, R.; CHAO, Y.; BHARATI, I.S.; FOGAL, V.; PASTORINO, S.; CONG, X.; NOMURA, N.; GALLAGHER, M.; ABBASI, T.; VALI, S.; PINGLE, S.C.; MAKALE, M.; KESAR, S. Novel anti-glioblastoma agents and therapeutic combinations identified from a collection of FDA approved drugs. *Journal of Translational Medicine* 12:13, 2014.

JIANG, Y.; UHRBOM, L: On the origin of glioma. *Upsala Journal of Medical Sciences*, 117: 113–121, 2012.

JOVČEVSKA, I.; KOČEVAR, N.; KOMEL, R. Glioma And Glioblastoma – How Much Do We (Not) Know? *Molecular And Clinical Oncology* 1: 935-941, 2013.

KANG, Y.J.; KIM, I.Y.; KIM, E.H.; YOON, M.J.; KIM, S.U.; KWON, T.K.; CHOI, K.S. Paxilline enhances TRAIL-mediated apoptosis of glioma cells via modulation of c-FLIP, survivin and DR5. *Exp. Mol. Med.* Vol. 43(1), 24-34, 2011.

KATOCH, D.; KUMAR, D.; SHARMA, U.; KUMAR, N.; PADWAD, Y.S.; LAL, B.; SINGH, B. Zephgrabetaine: a new betaine-type amaryllidaceae alkaloid from *Zephyranthes grandiflora*. *Nat Prod Commun.* 8(2):161-4, 2013.

KIMMELMAN, A.C. The dynamic nature of autophagy in cancer. *Genes & Development* 25:1999–2010.

KITTAKOOP, P.; MAHIDOL, C.; RUCHIRAWAT, S. Alkaloids as important scaffolds in therapeutic drugs for the treatments of cancer, tuberculosis, and smoking cessation. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, Vol. 14, No 2, 2014.

KRAKSTAD, C.; CHEKENYA, M. Survival signalling and apoptosis resistance in glioblastomas: opportunities for targeted therapeutics. *Molecular Cancer*, 9:135, 2010.

KU, B.M.; LEE, Y.K.; JEONG, J.Y.; RYU, J.; CHOI J.; KIM, J.S.; CHO, Y.W.; ROH, G.S.; KIM, H.J.; CHO, G.J.; CHOI, W.S.; KANG, S.S. Caffeine Inhibits Cell Proliferation and Regulates PKA/GSK3 β Pathways in U87MG Human Glioma Cells. *Mol. Cells* 31, 275-279, 2011.

LAMORAL-THEYS, D.; DECAESTECKER, C.; MATHIEU, V.; DUBOIS, J.; KORNIENKO, A.; KISS, R.; EVIDENTE, A.; POTTIER, L. Lycorine and its Derivatives for Anticancer Drug Design. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry* 10, 41-50, 2010.

LEE, S.T.; WELCH, K.D.; PANTER, K.E.; GARDNER, D.R.; GARROSSIAN, M.; CHANG, C.T. Cyclopamine: From Cyclops Lambs to Cancer Treatment. *J. Agric. Food Chem.*, Article ASAP. Publication Date (Web): April 10, 2014.

LEFRANC, F.; SAUVAGE, S.; VAN GOIETSENOVEN, G.V.; MÉGALIZZI, V.; LAMORAL-THEYS, D.; DEBEIR, O.; SPIEGL-KREINECKER, S.; BERGER, W.; MATHIEU, V.; DECAESTECKER, C.; KISS, R: Narciclasine, a plant growth modulator, activates Rho and stress fibers in glioblastoma cells. *Mol Cancer Ther* 8(7), 2009.

LI, L.; DAI, H.J.; YE, M.; WANG, S.L.; XIAO, X.J.; ZHENG, J.; CHEN, H.Y.; LUO, Y.H.; LIU, J. Lycorine induces cell-cycle arrest in the G0/G1 phase in K562 cells via HDAC inhibition. *Cancer Cell International* 12(1):49, 2012.

LIU, A.; WANG, S.; HOU, S.; LIN, C.; CHIU, W.; HSIAO, S.; CHEN, T.; SHIH, C. Evodiamine Induces Transient Receptor Potential Vanilloid-1-Mediated Protective Autophagy in U87-MG Astrocytes. *Evid Based Complement Alternat Med* 2013 24;2013:354840. Epub, 2013.

LIU, J.M.; PAN, F.; LI L.; LIU Q.R.; CHEN, Y.; XIONG, X.X.; CHENG, K.; YU, S.B.; SHI, Z.; YU, A.C.; CHEN, X.Q. Piperlongumine selectively kills glioblastoma multiforme cells via reactive oxygen species accumulation dependent JNK and p38 activation. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 437 87–93, 2014.

LOUIS D.N.; OHGAKI, H.; WIESTLER, O.D.; CAVENEE, W.K.; BURGER, P.C.; JOUVET, A.; SCHEITHAUER, B.W.; KLEIHUES, P. The 2007 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System. *Acta Neuropathol* 114:97-109, 2007.

LUCHETTI, G.; JOHNSTON, R.; MATHIEU, V.; LEFRANC, F.; HAYDEN, K.; ANDOLFI, A.; LAMORAL-THEYS, D.; REISENAUER, M.R.; CHAMPION, C.; PELLY, S.C.; VAN OTTERLO, W.A.; MAGEDOV, I.V.; KISS, R.; EVIDENTE, A.;

ROGELJ, S.; KORNIENKO, A. Bulbispermine: A Crinine-Type Amaryllidaceae Alkaloid Exhibiting Cytostatic Activity towards Apoptosis-Resistant Glioma Cells. *ChemMedChem*. 7(5): 815–822, 2012.

MALUMBRES, M.; BARBACID, M. Cell cycle, CDKs and cancer: a changing paradigm. *Nat Rev Cancer*. 9(3):153-66, 2009.

MCCUBREY, J.A.; STEELMAN, L.S.; BERTRAND, F.E.; DAVIS, N.M.; SOKOLOSKY, M.; ABRAMS, S.L.; MONTALTO, G.; D'ASSORO, A.B.; LIBRA, M.; NICOLETTI, F.; MAESTRO, R.; BASECKE, J.; RAKUS, D.; GIZAK, A.; DEMIDENKO, Z.N.; COCCO, L.; MARTELLI, A.M.; CERVELLO, M. GSK-3 as potential target for therapeutic intervention in cancer. *Oncotarget*, 5(10):2881-911, 2014.

MØLLER, S.; GRUNNET, K.; HANSEN, S.; SCHULTZ, H.; HOLMBERG, M.; SORENSEN, M.; POULSEN, H.S.; LASSEN, U. A phase II trial with bevacizumab and irinotecan for patients with primary brain tumors and progression after standard therapy. *Acta Oncologica*, 51: 797–804, 2012.

MOURA, D.J.; RICHTER, M.F.; BOEIRA, J.M.; HENRIQUES, J.A.P.; SAFFI, J. Antioxidant properties of β -carboline alkaloids are related to their antimutagenic and antigenotoxic activities. *Mutagenesis* 22 (4): 293-302, 2008.

MRUGALA, M.M. Advances and Challenges in the Treatment of Glioblastoma: A Clinician's Perspective. *Discov Med* 15(83):221-230, 2013.

NEWMAN, D.J.; CRAGG, G.M. Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. *J. Nat. Prod.* 70, 461, 2007.

PAULINO, V.M.; YANG, Z.; KLOSS, J.; ENNIS, M.J.; ARMSTRONG, B.A.; LOFTUS, J.C.; TRAN, N.L. TROY (TNFRSF19) is Overexpressed in Advanced Glial Tumors and Promotes Glioblastoma Cell Invasion via Pyk2-Rac1 Signaling. *Mol Cancer Res*. 8(11): 1558–1567, 2010.

PEIXOTO NETO, P.A.S.; CAETANO, L.C. Plantas medicinais: do popular ao científico. *Ed. UFAN*, 2005.

QI, Q.; LIU, X.; LI, S.; JOSHI, H.C.; YE, K. Synergistic suppression of nospapine and conventional chemotherapeutics on human glioblastoma cell growth. *Acta Pharmacologica Sinica*, 1–9, 2013.

RAJ, L.; IDE, T.; GURKAR, A.U.; FOLEY, M.; SCHENONE, M.; LI, X.; TOLLIDAY, N.J.; GOLUB, T.R.; CARR, S.A.; SHAMJI, A.F.; STERN, A.M.; MANDINOVA, A.; SCHREIBER, S.L.; LEE, S.W. Selective killing of cancer cells by a small molecule targeting the stress response to ROS. *Nature*, 13;475(7355):321-4, 2011.

RATES, S.M.K. Metilxantinas. *In: Farmacognosia da planta ao medicamento* (Simoes CMO; Schenkel EP; Gosmann G; Mello JCP; Mentz LA; Petrovick PR (Org.). 5a ed. rev. ampl. Porto Alegre: Editora da UFRGS, Florianópolis: Editora da UFSC, 2003.

REARDON, D.A.; DESJARDINS, A.; PETERS, K.B.; GURURANGAN, S.; SAMPSON, J.H.; MCLENDON, R.E.; HERNDON, J.E.; BULUSU, A.; THREATT, S.; FRIEDMAN, A.H.; VREDENBURGH, J.J.; FRIEDMAN, H.S. Phase II study of carboplatin, irinotecan, and bevacizumab for bevacizumab naïve, recurrent glioblastoma. *J Neurooncol.* 107(1):155-64, 2012.

SCHRIPSEMA, J.; DAGNINO, D.; GOSMANN, G. Alcaloides Indólicos. *In: Farmacognosia da planta ao medicamento* (Simoes, C.M.O.; Schenkel, E.P.; Gosmann, G.; Mello, J.C.P.; Mentz, L.A.; Petrovick, P.R. (Org.). 5a ed. rev. ampl. Porto Alegre: Editora da UFRGS, Florianópolis: Editora da UFSC, 2003.

SINN, B.; TALLEN, G.; SCHROEDER, G.; GRASSL, B.; SCHULZE, J.; BUDACH, V.; TINHOFER, I. Caffeine Confers Radiosensitization of PTEN-Deficient Malignant Glioma Cells by Enhancing Ionizing Radiation–Induced G1 Arrest and Negatively Regulating Akt Phosphorylation. *Mol Cancer Ther*, 9(2), 2010.

SPEISKY, H.; CASSELS, B.K. Boldo and boldine: an emerging case of natural drug development. *Pharmacol Res.* 29:1-12, 1994.

SPEISKY, H.; CASSELS, B.K.; LISSI, E.A.; VIDELA, L.A. Antioxidant properties of the alkaloid boldine in systems undergoing lipid peroxidation and enzyme inactivation. *Biochem Pharmacol.* 41:1575–1581, 1991.

SUGIMOTO, N.; MIWA, S.; HITOMI, Y.; NAKAMURA, H.; TSUCHIYA, H.; YACHIE, A. Theobromine, the primary methylxanthine found in *Theobroma cacao*, prevents malignant glioblastoma proliferation by negatively regulating phosphodiesterase-4, extracellular signal-regulated kinase, Akt/mammalian target of rapamycin kinase, and nuclear factor-kappa B. *Nutrition and Cancer*, 1–5, 2014.

TABUNOKI, H.; SAITO, N.; SUWANBORIRUX, K.; CHARUPANT, K.; SATOH, J. Molecular network profiling of U373MG human glioblastoma cells following induction of apoptosis by novel marine-derived anti-cancer 1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline alkaloids. *Cancer Cell International* 12:14, 2012.

TAKOS, A.M.; ROOK, F. Towards a Molecular Understanding of the Biosynthesis of Amaryllidaceae Alkaloids in Support of Their Expanding Medical Use. *Int. J. Mol. Sci.* 14, 11713-11741, 2013.

TAN, W.; LI, Y.; CHEN, M.; WANG, Y. Berberine hydrochloride: anticancer activity and nanoparticulate delivery system. *International Journal of Nanomedicine* 6, 2011.

TEIXEIRA, L.A.; FONSECA, C.O. De doença desconhecida a problema de saúde pública: o INCA e o controle do câncer no Brasil. *INCA/Ministério da Saúde*, 2007.

VAN GOIETSENOVEN, G.; ANDOLFI, A.; LALLEMAND, B.; CIMMINO, A.; LAMORAL-THEYS, D.; GRAS, T.; ABOU-DONIA, A.; DUBOIS, J.; LEFRANC, F.; MATHIEU, V.; KORNIENKO, A.; KISS, R.; EVIDENTE, A. Amaryllidaceae Alkaloids Belonging to Different Structural Subgroups Display

Activity against Apoptosis-Resistant Cancer Cells. *J. Nat. Prod.* 73, 1223–1227, 2010.

VAN GOIETSENOVEN, G.V.; MATHIEU, V.; LEFRANC, F.; KORNIENKO, A.; EVIDENTE, A.; KISS, R: Narciclasine as well as other Amaryllidaceae isocarbostryls are promising GTP-ase targeting agents against brain cancers. *Med Res Rev.* 33(2):439-55, 2013.

VIEGAS, J.R.C.; BOLZANI, V.S.: Produtos Naturais e a Química Medicinal Moderna. *Quim. Nova*, Vol. 29, No 2, 326-337, 2006.

WANG, P; YUAN, H.H.; ZHANG, X; LI, Y.P.; SHANG, L.Q.; YIN, Z. Novel Lycorine Derivatives as Anticancer Agents: Synthesis and In Vitro Biological Evaluation. *Molecules* 19, 2469-2480, 2014.

WANG, Y.H.; MORRIS-NATSCHKE, S.L.; YANG, J.; NIU, H.M.; LONG, C.L.; LEE, K.H. Anticancer Principles from Medicinal Piper Plants. *J Tradit Complement Med.* 4(1):8-16, 2014.

WILLIAMS, G.H.; STOEBER, K. The cell cycle and cancer. *J PATHOL.* 226(2):352-64, 2009.

ANEXO I: Normas da Revista *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*.

Instruções aos Autores

Escopo e Política

Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences tem por finalidade publicar os seguintes tipos de publicação: Artigos originais relacionados com as áreas de conhecimento das Ciências Farmacêuticas; Trabalhos de atualização ou de revisão, que serão incluídos quando solicitados a especialistas pela Editoria Científica ou Editoria Associada ou quando submetidos em forma de Abstract para avaliação quanto ao interesse. Ressalta-se a necessidade de se incluir visão crítica dos autores, inserindo os seus trabalhos no tema e avaliando-os em relação ao estado de arte no País; Notas Prévias relativas a novas metodologias e resultados parciais, cuja originalidade justifique a publicação rápida. Nesse caso, o limite é de 2.000 palavras, excluindo-se, tabelas, figuras e referências. Podem-se incluir, no máximo, uma figura, uma tabela e 10 referências; Resenhas elaboradas por especialistas segundo sugestão da Editoria Científica ou Editoria Associada. Suplementos temáticos e aqueles relativos a eventos científicos podem ser publicados mediante aprovação prévia da Editoria Científica e/ou Editoria Associada.

Trabalhos relacionados a pesquisas com humanos ou animais devem, obrigatoriamente, incluir o parecer de aprovação dos respectivos Comitês de Ética.

Os manuscritos que não atendam às instruções não serão avaliados. Os trabalhos elaborados por especialistas nacionais e estrangeiros devem ser apresentados em língua inglesa, ser originais e inéditos e destinar-se,

exclusivamente, ao Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences. Os manuscritos submetidos ao periódico que atenderem as “Instruções aos autores” são encaminhados para avaliação por revisores especialistas no tema abordado. Após a revisão, cujo caráter anônimo é mantido durante todo o processo, os manuscritos são enviados à Editoria Associada e ao Editor Científico, que decidirão sobre a publicação. Manuscritos recusados, passíveis de reformulação, poderão ser re-submetidos após reestruturação, como novo trabalho, iniciando outro processo de avaliação. Manuscritos condicionados à reestruturação serão reavaliados pelos revisores. Manuscritos enviados aos autores para revisão devem retornar à Editoria dentro de, no máximo, dois meses, caso contrário terão o processo encerrado. Todas as revisões dos manuscritos deverão ser acompanhadas de carta especificando as alterações efetuadas no documento original. Essas mudanças devem, também, ser indicadas diretamente no manuscrito. Manuscritos aceitos e publicados são de propriedade da Revista, ficando os direitos autorais a ela reservados. A declaração de responsabilidade e transferência dos direitos autorais será encaminhada juntamente com o manuscrito, devendo retornar no prazo estipulado.

Forma de apresentação de manuscritos:

- Estrutura

Cabeçalho: constituído por: Título do trabalho, que deve ser breve e indicativo da exata finalidade do trabalho; Autor(es) por extenso, indicando a(s) instituição(ões) a(s) qual(is) pertence(m) mediante números. O autor para correspondência deve ser identificado com asterisco, fornecendo o endereço completo, incluindo o eletrônico. Estas informações devem constar na margem esquerda do texto e logo após a filiação.

Resumo: deve apresentar a condensação do conteúdo, expondo metodologia, resultados e conclusões, não excedendo 200 palavras.

Unitermos: devem representar o conteúdo do artigo, evitando-se os de natureza genérica. Observar o limite máximo de 6(seis) unitermos.

Resumo em português: deve ser apresentado junto ao resumo em inglês e ser antecedido do título do artigo em português. O conteúdo deve e acompanhar o resumo em inglês.

Unitermos em português: devem acompanhar os unitermos em inglês e estar abaixo do Resumo.

Introdução: deve estabelecer com clareza o objetivo do trabalho e sua relação com outros trabalhos no mesmo campo. Extensas revisões de literatura devem ser substituídas por referências aos trabalhos bibliográficos mais recentes, nos quais tais revisões tenham sido apresentadas.

Material e Métodos: a descrição dos métodos usados deve ser breve, porém suficientemente clara para possibilitar a perfeita compreensão e repetição do trabalho. Processos e Técnicas já publicados, a menos que tenham sido extensamente modificados, devem ser apenas referidos por citação. Estudos em humanos e em animais devem, obrigatoriamente, fazer referência à aprovação do Comitê de Ética correspondente.

Resultados e Discussão: deverão ser apresentados de forma concisa e em ordem lógica. Tabelas ou figuras, quando possível, devem substituir o texto, na apresentação dos dados. Sempre que pertinente, fornecer as faixas, desvios

padrão e indicar as significâncias das diferenças entre os valores numéricos obtidos. A discussão deve se restringir ao significado dos dados obtidos e resultados alcançados, procurando, sempre que possível, relacionar sua significância em relação a trabalhos anteriores da área. Especulações que não encontram justificativa para os dados obtidos devem ser evitadas. É facultativa a apresentação desses itens em separado.

Conclusões: quando pertinentes, devem ser fundamentadas no texto.

Agradecimentos: devem constar de parágrafo à parte, antecedendo as referências bibliográficas, e ser compatíveis com as exigências de cortesia e divulgação.

Referências bibliográficas: devem ser organizadas de acordo com as normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas - ABNT NBR-6023, ordenadas alfabeticamente no fim do artigo incluindo os nomes de todos os autores. A exatidão das referências bibliográficas é de responsabilidade dos autores. Para exemplos, consultar o site www.bcq.usp.br.

- Apresentação dos originais:

Os trabalhos devem ser apresentados em lauda padrão (de 30 a 36 linhas com espaço 1,5), utilizando o programa Word for Windows. Os trabalhos, acompanhados de carta de encaminhamento assinada por todos os autores, devem ser enviados, apenas por via eletrônica.

- Informações Adicionais:

Citação bibliográfica: As citações bibliográficas devem ser apresentadas no texto pelo(s) nome(s) do(s) autor(es), com apenas a inicial em maiúsculo, seguidas do ano de publicação. No caso de haver mais de três autores, citar o primeiro e acrescentar a expressão et al. Caso haja mais de uma citação com mesmos autores e mesmo ano de publicação, diferencia-las com letras minúsculas junto ao ano.

Ilustrações: As ilustrações (gráficos, tabelas, fórmulas químicas, equações, mapas, figuras, fotografias) devem ser incluídas no texto, o mais próximo possível das respectivas citações. Mapas, figuras e fotografias devem ser, também, apresentados em arquivos separados e digitalizadas em formato TIF ou JPG com resolução de 300 dpi. Cada fascículo da BJPS reproduzirá, na capa, figura escolhida de um dos trabalhos. As tabelas devem ser numeradas consecutivamente em algarismos romanos e as figuras em algarismos arábicos, seguidos do título. As palavras TABELA e FIGURA devem aparecer em maiúsculas apenas no título ou na legenda, respectivamente. Legendas e títulos devem acompanhá-las nos arquivos separados, assim como no texto.

Nomenclatura: pesos, medidas, nomes de plantas, animais e substâncias químicas devem estar de acordo com as regras internacionais de nomenclatura. A grafia dos nomes de fármacos deve seguir, no caso de artigos nacionais, as Denominações Comuns Brasileiras (DCB) em vigor, podendo ser mencionados uma vez (entre parênteses, com inicial maiúscula) os registrados.