

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Farmácia

Trabalho de Conclusão de Curso em Farmácia

**Potencial antitumoral de alcalóides de Amaryllidaceae:
uma revisão**

Patrícia Ferrari

Porto Alegre, Junho de 2011

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Farmácia

**Potencial antitumoral de alcalóides de Amaryllidaceae:
uma revisão**

Patrícia Ferrari

Trabalho de Conclusão de Curso em Farmácia

Orientador: Prof. Dr José Angelo Silveira Zuanazzi

Co-orientadora: Dra. Raquel Brandt Giordani

Porto alegre, Junho de 2011

Pensamento:

***"O que a mente do homem pode conceber e acreditar,
pode ser alcançada" (Napoleon Hill)***

Agradecimentos

Ao meu orientador Dr. Prof. José Ângelo Zuanazzi, por ter aceitado me orientar nesse trabalho de conclusão;

À minha co-orientadora Dra. Raquel Brandt Giordani, que mesmo mudando-se para outro estado não mediu esforços para me ajudar nesse trabalho;

Aos meus pais, minha base, minhas referências, com o qual sempre pude contar. Obrigada pelo amor incondicional e pelos exemplos valiosos. A minha irmã, que sempre foi um exemplo pra mim de perseverança e também por sempre estar disponível a me ajudar. A vocês, minha família, só tenho à agradecer por entenderem minhas ausências nesses cinco anos de graduação, onde tive que me ausentar as vezes por longos períodos, e por sempre acreditarem em mim, mesmo quando eu achava que não era capaz. Amo vocês.

Às minhas amigas, que tornaram todos os meus dias mais alegres, por estarem sempre ao meu lado quando precisei, seja para dar um conselho, seja para criticar, mas sempre querendo meu bem. Obrigada por todas risadas descontraídas no meio de tantas responsabilidades e obrigações, com certeza vocês fizeram esses anos serem mais leves. Amo vocês.

Aos meus amigos Fernando, Gisélia e Thiago, por terem me ajudado em um dos momentos decisivos da minha vida, com certeza serei eternamente grata.

Ao meu namorado Jeferson, que sempre compreendeu minhas ausências, e pelo carinho e a atenção dedicados. Obrigada por estar sempre no meu lado me incentivando. Te amo.

Enfim, agradeço a todos aqueles que de alguma forma contribuíram não somente para a realização desse trabalho, mas também para a realização e finalização desse curso.

Sumário

1. Resumo.....	6
2. Abstract.....	7
3. Introdução.....	8
4. Objetivos.....	10
5. Materiais e métodos.....	11
6. Revisão Bibliográfica.....	12
6.1 Aspectos biológicos.....	12
6.1.1 Ciclo celular e regulação do crescimento.....	12
6.1.2 Desenvolvimento do câncer.....	13
6.1.3 Apoptose.....	15
6.2 Aspectos químicos.....	17
6.2.1 Família Amaryllidaceae.....	17
6.3 Atividade citotóxica de alcalóides de Amaryllidaceae.....	18
6.3.1 Alcalóides tipo Isocarbostiril.....	18
6.3.1.1 Relação estrutura-atividade.....	30
6.3.1.2 Mecanismo de ação.....	31
6.3.2 Alcalóides tipo licorina.....	32
6.3.2.1 Relação estrutura-atividade.....	36
6.3.2.2 Mecanismo de ação.....	36
6.3.3 Alcalóides tipo crinina e haemantamina.....	38
6.3.4 Alcalóides tipo pretazetina.....	41
6.3.5 Atividade citotóxica de extratos de plantas da família amaryllidaceae.....	43
7. Discussão.....	45
8. Conclusão.....	47
9. Referências.....	48

1. Resumo

O câncer é uma doença com elevados índices de mortalidade em todo mundo, e um dos maiores obstáculos no seu tratamento é a inespecificidade das drogas. A maioria dos quimioterápicos disponíveis, atualmente, é tóxica tanto para célula cancerosa como para a célula não cancerosa. Para contornar esse problema, vários pesquisadores se esforçam na busca de novos compostos com atividade citotóxica seletiva contra células malignas, com o objetivo de melhorar a terapia já existente. Esse trabalho trata-se de uma revisão integrativa sobre a atividade citotóxica dos alcalóides extraídos e isolados de espécies da família Amaryllidaceae contra células de câncer. Essa família de plantas possui um grupo de alcalóides isoquinolínicos derivados de um precursor universal: a norbeladina. Tais compostos bioativos foram relatados em diversos estudos por possuírem uma notável atividade citotóxica contra linhagens celulares de câncer. A seletividade desses alcalóides também está sendo extensivamente discutida em trabalhos que comparam a sua citotoxicidade contra células tumorais *versus* células não tumorais, e os resultados são promissores. Para analisar detalhadamente o efeito citotóxico dos alcalóides de Amaryllidaceae, possíveis mecanismos de ação estão sendo sugeridos e seu farmacóforo essencial aos poucos está sendo elucidado. Pancratistatina, narciclasina e licorina são exemplos de alcalóides que apresentaram atividade promissora contra células de câncer tanto *in vitro* como *in vivo*. A especificidade desses compostos e a capacidade de inibir a proliferação e a migração das células malignas são algumas de suas características. A capacidade de indução à morte celular por apoptose foi demonstrada em diversos estudos e parece ser o alvo da maioria desses compostos. Outros mecanismos de ação estão sendo discutidos, uma vez que foi demonstrado que as linhagens celulares de câncer resistentes ao mecanismo de apoptose também exibiram inibição de sua proliferação na presença desses alcalóides.

Palavras-chave: Alcalóides de Amaryllidaceae, citotoxicidade, câncer.

2. Abstract

Cancer is a disease with high mortality rates worldwide, and one of the biggest obstacles in their treatment is the non-specificity of drugs. Most chemotherapeutic drugs currently available are toxic both to cancerous cell and to noncancerous cell. To circumvent this problem, many researchers strive to the search for new compounds with selective cytotoxic activity against malignant cells, aiming to improve the existing therapy. This work is an integrative review about the cytotoxic activity of alkaloids extracted and isolated from species of Amaryllidaceae against cancer cells. This family of plants has a group of isoquinoline alkaloids derived from a precursor universal: norbelladine. These bioactive compounds have been reported in several studies to have a remarkable cytotoxic activity against cancer cell lines. The selectivity of these alkaloids is also being extensively discussed in studies comparing the its cytotoxicity against tumor cells *versus* non-tumor cells, and the results are promising. For a detailed analysis of the cytotoxic effects of Amaryllidaceae alkaloids, possible mechanisms of action are being suggested and its essential pharmacophore gradually being elucidated. Pancratistatin, narciclasin and lycorine are examples of alkaloids that showed promising activity against cancer cells both *in vitro* and *in vivo*. The specificity of these compounds and their ability to inhibit proliferation and migration of malignant cells are some of their characteristics. The ability to induce cell death by apoptosis was demonstrated in several studies and seems to be the target of most of these compounds. Other mechanisms of action are being discussed, since it was shown that cancer cell lines resistant to the mechanism of apoptosis also exhibited inhibition of proliferation in the presence of these alkaloids.

Keywords: Amaryllidaceae alkaloids, cytotoxicity, cancer.

3. Introdução

Plantas e produtos naturais vêm desempenhando um papel importante no tratamento de várias doenças. Eles são uma valiosa fonte de compostos com diversas estruturas químicas e atividades biológicas fornecendo importantes protótipos para o desenvolvimento de novos medicamentos (Zupko *et al.*, 2009; Jitsuno *et al.*, 2009). Um exemplo da importância dos produtos naturais na terapêutica é representado pelos alcalóides extraídos da *Catharanthus roseus*. Esta planta nativa do Madagascar e pertencente à família Apocynaceae é fonte de mais de 75 alcalóides, dentre os quais a vincristina e vimblastina, utilizadas para tratar a leucemia infantil e a doença de Hodgkin com grande sucesso. Princípios ativos que são comumente empregados na medicina como ácido acetilsalicílico, efedrina, ergometrina, tubocurarina, digoxina, reserpina, atropina, galantamina, entre outros, também têm sua origem natural (Gurib-Fakim, 2006).

Dentre essas plantas com valor medicinal se destacam as da família Amaryllidaceae, que são ervas perenes e crescem a partir de bulbos. Elas possuem mais de 60 gêneros cujas 800 espécies são encontradas em vários países (Kornienko e Evidente, 2008). Ainda, são amplamente utilizadas na medicina tradicional em diversas partes do mundo e os seus efeitos farmacológicos estão freqüentemente associados aos alcalóides que elas sintetizam (Kornienko e Evidente, 2009; Zupko *et al.*, 2009). Estes compostos apresentam uma diversidade de estruturas químicas básicas e atividades biológicas significativas (Jitsuno *et al.*, 2009).



Figura 1. *Hippeastrum vittatum* (exemplo de uma espécie de Amaryllidaceae)¹

¹ Retirado do site: <http://www.telosrarebulbs.com/SAmerican2.html> (maio de 2011).

As propriedades terapêuticas dessas plantas já é conhecida desde o século IV aC, quando Hipócrates usava o óleo de narciso, *Narciso poeticus* L., para o tratamento de tumores uterinos (Gabrielsen *et al.*, 1992). O estudo dos alcalóides de Amaryllidaceae começou em 1877 com o isolamento da licorina de plantas da espécie *Narcissus*. O interesse em torno deste grupo de compostos naturais tem aumentado ao longo do tempo, principalmente, devido às suas eficácias antitumoral e antiviral (Kornienko e Evidente, 2008).

Recentemente, um importante avanço foi conseguido com o alcalóide galantamina (Razadine[®]), extraído de algumas espécies de Amaryllidaceae, que chegou ao mercado como um produto farmacêutico para o tratamento da doença de Alzheimer. O mecanismo de ação desse alcalóide contempla a inibição competitiva e reversível da enzima acetilcolinesterase (Harvey, 2008).

Entre o potencial farmacológico já relatado para alguns compostos dessa família estão as atividades antiviral (Szlávik *et al.*, 2004 ; Hofmann *et al.*, 2004), antifúngica (Del Giudice *et al.*, 2005), antiinflamatória (Mikami *et al.*, 1999), antimicrobiana (Castilhos *et al.*, 2007), antimalárica (Campbell *et al.*, 1998), anticolinesterásica (Lopez *et al.*, 2002; McNulty *et al.*, 2010), antiparasitária (Giordani *et al.*, 2011), além de efeitos inibitórios na síntese de RNA e/ou síntese de proteínas (Jimenez *et al.*, 1976) e na biossíntese de ácido ascórbico (Arrigoni *et al.* 1975). Além disso, destaca-se a atividade antitumoral de alguns compostos dessas plantas, o que sugere Amaryllidaceae como uma fonte promissora de novas estruturas para a futura geração de drogas (Kornienko e Evidence; 2008; Ingrassia *et al.*, 2008).

4. Objetivos

O objetivo principal do presente trabalho é fazer uma revisão bibliográfica das estruturas de alcalóides de Amaryllidaceae que possuem uma notável atividade citotóxica e/ou antiproliferativa contra células normais e tumorais. Visto que a hipótese de citotoxicidade desses alcalóides ainda está em desenvolvimento, por causa de sua seletividade que ainda está em discussão e seu mecanismo de ação que não está totalmente elucidado, faremos um levantamento de prováveis farmacóforos essenciais já relatados para a atividade antitumoral desses compostos.

5. Materiais e métodos

Para a elaboração dessa revisão bibliográfica foram realizadas buscas nos bancos de dados: Scopus, Science Direct, PUBMED (Medline), ISI WEB of Knowledge e Lilacs, nos meses de março a maio de 2011, com as seguintes palavras-chaves:

1. Amaryllidaceae
2. Alkaloids
3. Cytotoxicity
4. Apoptosis
5. Cancer

6. Revisão Bibliográfica

6.1 Aspectos biológicos

6.1.1 Ciclo celular e Regulação do crescimento

O ciclo celular é um evento que prepara e realiza a divisão celular. É contínuo e se divide em duas fases principais: a interfase, que é o período entre uma mitose e outra e é dividida nos períodos G1, S e G2, e a mitose, (**Figura 2**) que é o processo pelo qual as células eucarióticas dividem seus cromossomos entre duas células filhas (Lewin, 2001).

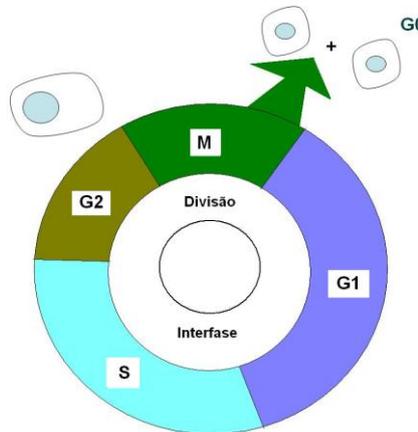


Figura 2. Ciclo de replicação celular.

A célula que não está replicando apresenta-se na fase G0; quando esse estágio passa para a fase G1, há a preparação da célula para a multiplicação, com a produção de constituintes celulares essenciais, além da preparação para a síntese de DNA, que ocorrerá na fase S. Nas fases G1 e S existem diversos mecanismos reguladores que irão afetar a multiplicação celular. Os fatores de crescimento ativam a multiplicação celular, enquanto que os controles de retroalimentação são inibidores da multiplicação celular. Estes controles são, por exemplo, genes supressores tumorais, que detém a replicação celular quando há dano no DNA, para que ele seja reparado. Outro evento importante é a apoptose (morte celular programada), que provoca a morte da célula sem conseqüências fisiológicas; por outro lado, células resistentes a esse mecanismo podem ocasionar a formação de tumores (Zhou e Elledge, 2000). Na fase G2 ocorre a síntese de componentes para a mitose,

enquanto na fase M ocorre a produção do fuso mitótico. Após a divisão do material nuclear há a separação da célula mãe, formando as duas células filhas, finalizando o ciclo de replicação celular com o retorno à fase G0. A célula tumoral ou transformada não finaliza o ciclo de replicação celular, isto é, não retorna à fase G0, assim passa da fase M para nova fase G1, isso quer dizer que há excesso multiplicação celular -hiperplasia. Muitos fármacos eficazes contra o câncer exercem sua ação sobre as células que se encontram no ciclo celular, outros tem a capacidade de exterminar as células tumorais independentemente de estarem atravessando o ciclo ou de estarem em repouso no compartimento G0 (Murad e Katz, 1996).

6.1.2 *Desenvolvimento do Câncer*

As hiperplasias podem ser benignas ou malignas. Um tumor benigno é bem diferenciado, cresce lentamente, mostra um crescimento expansivo com o encapsulamento e não têm metástase. Em contraste, um tumor maligno (neoplasia) é muitas vezes pouco diferenciado, cresce rapidamente, com muitas mitoses, mostra crescimento invasivo, sem cápsula e freqüentemente metastatiza (Jang *et al.*, 2011). Este é responsável por milhões de mortes a cada ano em todo o mundo segundo dados da WHO (World Health Organization).

O desenvolvimento e formação de uma neoplasia é consequência de uma série de alterações essenciais na fisiologia da célula provocadas por fatores intrínsecos ou extrínsecos. Entre os intrínsecos destaca-se a suficiência em relação aos fatores de crescimento, insensibilidade aos inibidores de crescimento, evasão à morte celular programada por apoptose, potencial ilimitado de replicação, angiogênese aumentada, invasão tecidual e disseminação à distância (metástase). Como fatores extrínsecos citam-se os carcinógenos químicos e físicos, agentes infecciosos e o estilo de vida do indivíduo (Hanahan e Weinberg, 2000).

As alterações que geram as neoplasias podem ocorrer em genes especiais denominados proto-oncogenes, que a princípio são inativos em células normais. Quando ativados, por mutação, os proto-oncogenes transformam-se em oncogenes.

Outra alteração possível é uma mutação nos supressores do tumor permitindo assim uma proliferação. Essas células alteradas passam então a se comportar de forma anormal, multiplicando-se de maneira descontrolada. Com a constante multiplicação celular, há a necessidade de que novos vasos sanguíneos sejam formados para que haja a nutrição destas células, em um processo denominado angiogênese. A manutenção e o acúmulo de massa dessas células formam os tumores malignos e elas também podem adquirir a capacidade de se desprenderem do tumor e de migrarem, invadindo inicialmente os tecidos vizinhos, podendo chegar ao interior de um vaso sanguíneo ou linfático e, através destes, disseminarem-se, chegando a órgãos distantes do local onde o tumor se iniciou, formando as metástases (Chabner e Longo, 1996).

Câncer é um termo empregado para designar mais de uma centena de doenças heterogêneas, que diferem no tempo de seu desenvolvimento e nas suas propriedades biológicas (Perez-Losada *et al.*, 2011). Um mesmo grupo de indivíduos expostos ao mesmo agente cancerígeno pode ou não desenvolver um tumor, e mesmo entre aqueles que são sensíveis, os tumores podem não aparecer ao mesmo tempo (Carmichael *et al.*, 2003), assim como indivíduos mesmo sem a exposição a agentes cancerígenos podem desenvolver uma neoplasia ou estar exposto e não desenvolver. Portanto, o câncer é considerado uma doença genética, mas não é necessariamente hereditária.

Os tumores também variam enormemente tanto na sua evolução como no seu comportamento, por exemplo, o local de crescimento, a resposta ao tratamento e a recaída ou dormência tumoral (Aguirre-Ghiso, 2007). O risco de tumor é a consequência da interação entre os constituintes genéticos e as exposições ambientais. A combinação entre a base genética e os fatores ambientais varia entre os indivíduos e podem explicar a suscetibilidade a tumores com comportamentos diferentes (Perez-Losada *et al.*, 2011).

Existem três tipos principais de tratamento para o câncer: cirurgia, radioterapia e quimioterapia. O objetivo primário da quimioterapia é destruir as células neoplásicas, preservando as normais. Entretanto, a maioria dos agentes quimioterápicos atua de forma não-específica, lesando tanto células malignas

quanto normais (Murad e Katz, 1996). A quimioterapia é uma estratégia essencial para o tratamento de disseminação de cânceres. No entanto, sua eficácia é limitada pela resistência às drogas tanto intrínsecas ou adquiridos pela célula. Com o objetivo de contornar a resistência à quimioterapia convencional com compostos anticâncer, novos alvos celulares são necessários. Esta constatação estimula a busca de novos protótipos, especialmente, aqueles de origem natural (Jokhadze *et al.*, 2007).

Dentre alguns produtos naturais citotóxicos, usados clinicamente no tratamento de neoplasias, têm-se os alcalóides vimblastina e vincristina, extraídos de *Catharanthus roseus*, que agem pela inibição do fuso mitótico impedindo a polimerização da tubulina. Ainda o paclitaxel (Taxol[®]) derivado do *Taxus brevifolia* e *Taxus baccata*, que age também pela inibição do fuso mitótico impedindo a despolimerização dos microtúbulos em tubulina (Oliveira, 2002).

6.1.3 Apoptose

Em organismos multicelulares, a homeostase é mantida através de um equilíbrio entre a proliferação e morte celular. A morte celular fisiológica ocorre, principalmente, através de uma forma de suicídio celular chamada de apoptose (Thompson, 1995) que elimina células desnecessárias e indesejáveis.

O mecanismo que leva uma célula à apoptose resulta de um equilíbrio entre a indução de apoptose e os fatores de inibição da apoptose. O gene *Bax* é um fator de indução à apoptose (Park *et al.*, 2005), e *Bcl-2*, um fator de inibição de apoptose (Cory *et al.*, 2003), ambos estão envolvidos no processo. A família das caspases, especialmente as caspases 3, 8 e 9, participa da cascata proteolítica (**Figura 3A**). A ação dessas proteases é um ponto central na resposta apoptótica. Quando uma célula recebe estímulos pró-apoptóticos, ou falta de estímulos anti-apoptóticos, as caspases efetoras são ativadas (Fischer *et al.*, 2003). O citocromo c está localizado no espaço intramembrana da mitocôndria, e em resposta a alguns agentes indutores de apoptose, ele é liberado para o citosol (Kluch *et al.*, 1997) sendo um ponto chave no desencadeamento dos eventos celulares. Durante a apoptose, a células sofrem

uma cascata de eventos que finalmente resultam nas características morfológicas, como a condensação do núcleo e fragmentação do DNA, com a formação de corpos apoptóticos (**Figura 3B**) (Nagata *et al.*, 2003).

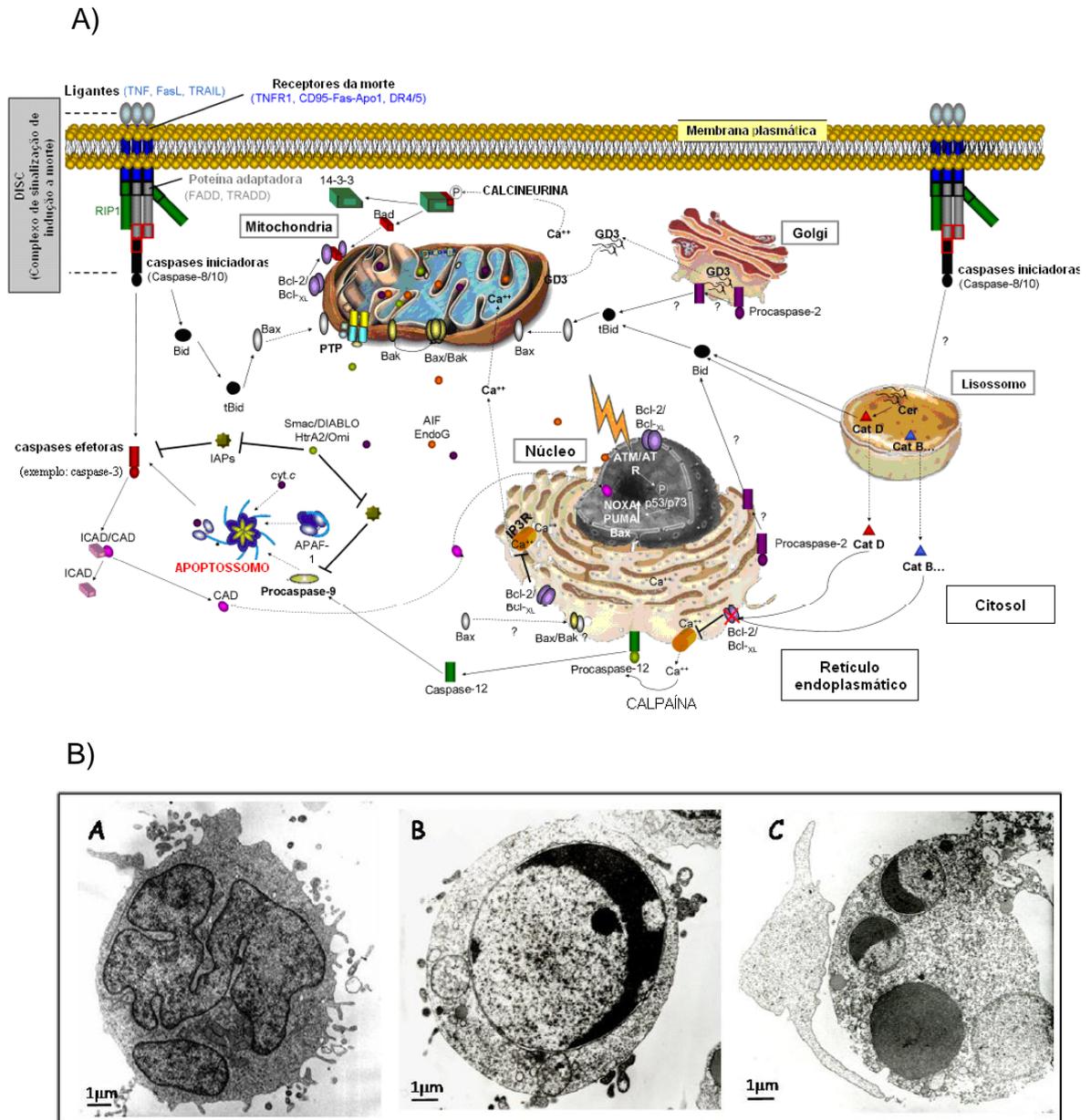


Figura 3 A) Representação da apoptose como via de morte celular; B) Ilustração de uma célula HL-60 que sofreu mecanismo de apoptose (Adaptado de Apraiz *et al.*, 2011).

A inibição da proliferação e indução de apoptose são reguladas por uma rede de vias de sinalização e fatores de transcrição, que são possíveis alvos para a terapia antitumor (**Figura 3A**) (Thompson, 1995). Algumas drogas anticâncer podem causar a morte celular interferindo nos processos do ciclo celular (Dirsch *et al.*, 2002)

e outras causam morte celular por induzir apoptose (McNulty *et al.*,2009), uma vez que desempenha um papel importante no equilíbrio entre a replicação e morte celular.

A indução da apoptose é um dos principais alvos dos produtos naturais citotóxicos, e está evidenciada em vários estudos realizados. Entre as substâncias que possuem perfil citotóxico e capazes de induzir a apoptose encontram-se os alcalóides da família Amaryllidaceae. Essas substâncias foram relatadas, até então, por diversos estudos como potentes mediadores da morte celular programada.

6.2) Aspectos químicos

6.2.1) *Família Amaryllidaceae*

Plantas pertencentes à família Amaryllidaceae são um grupo de espécies de monocotiledôneas que possuem 85 gêneros e 1100 espécies, distribuídas em grande parte pelas regiões tropicais e temperadas do mundo, e têm-se revelado fontes abundantes de agentes terapêuticos (Zhong, 2008). Uma das características particulares dessa família é a presença de um grupo de alcalóides isoquinolínicos quase exclusivos, alguns dos quais não possuem relatos de ocorrência em outras famílias de plantas (Unver, 2007). Amaryllidaceae apresenta uma variação ontogênica de seus alcalóides e os eventos como estresse, injúrias mecânicas ou ataque de insetos causam uma quase completa hidrólise dos alcalóides conjugados e também produz oxidação de metabólitos (Ghosal *et al.*, 1990), tornando-os mais disponíveis para exercer sua atividade.

Já foram relatados vários estudos sobre a biossíntese de alcalóides de Amaryllidaceae, os quais apresentam diversidade química e podem ser divididos em subgrupos diferentes (Eichhorn *et al.*, 1998; Kornienko e Evidente, 2008). Esses compostos são sintetizados a partir de um precursor universal, a norbeladina, que é originada pela junção dos aminoácidos tirosina e fenilalanina (Eichhorn *et al.*, 1998). A norbeladina sofre uma *o*-metilação gerando o intermediário *o*-metil-norbeladina. Este intermediário sofre um acoplamento oxidativo e produz uma segunda ciclização na molécula, que pode ser *orto-para* (Anel 1), *para-orto* (Anel 2) ou *para-para* (Anel 3) (Geissman, 1969), conforme representado na **Figura 4**. Assim, cada tipo de Anel (1, 2 ou 3) pode dar origem a até nove esqueletos (**Figura 5**): licorina, amarbelisina, caranina, galantina, pseudolicorina, norpluvina e ungeremina do tipo **pirrolo[de]fenantrina**; **homolicorina**; tipo licorenina, a nobilisitina B, a hipeastrina e a clivonina que possuem o anel **2- benzopirano [3,4g] indol**; haemantamina, crinina, haemantidina, crinamina, bufanisina, bufanamina, ambelina do tipo **5,10 β -etanofenantridina**; licoricidina, narciclasina e pancratistanina do tipo **isocarbostiril**;

tazetina, protótipo do tipo pretazetina e representante do anel **2-benzopirano[3,4-c]indol**; montanina do tipo **5,11-metanomorfantridina**; galantamina do tipo **6H-benzofuro[3a,3,2-e,f]-2-benzazepina** (Bastida *et al.*, 2006; Goietsenoven *et al.*, 2010).

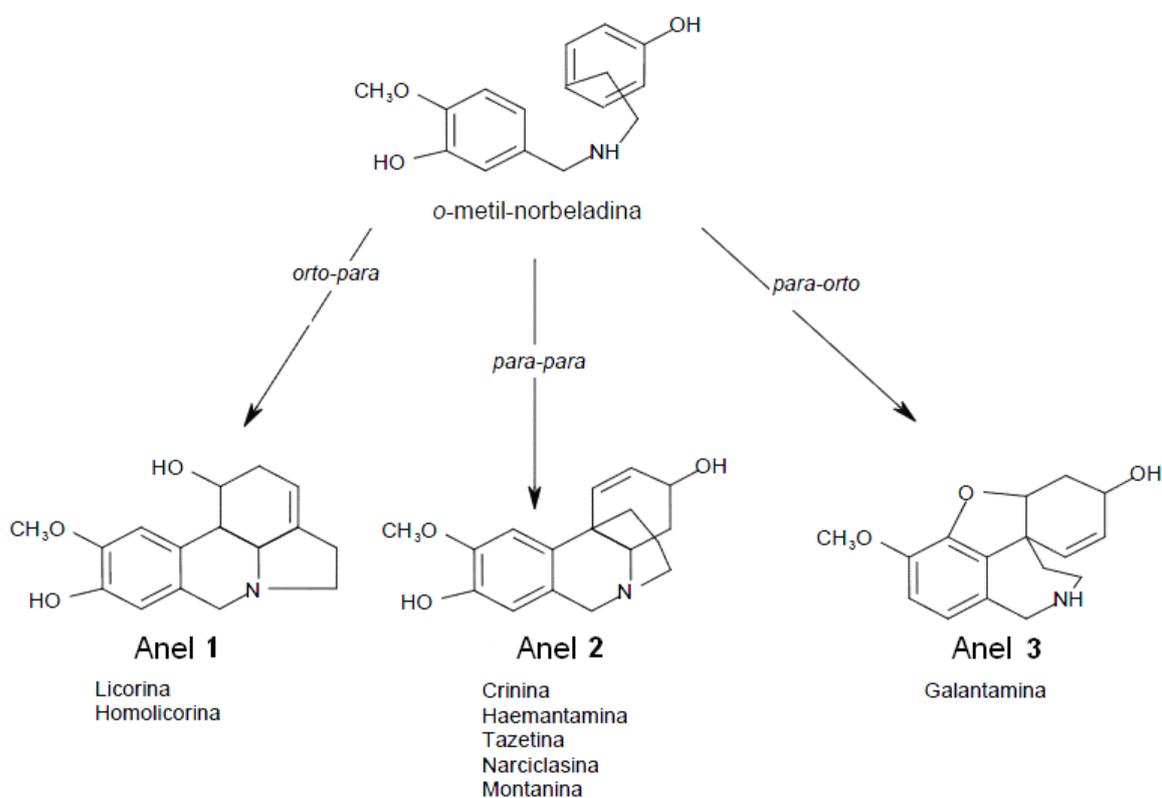


Figura 4 – Diferentes acoplamentos oxidativos do fenol no precursor dos alcalóides de Amaryllidaceae (Adaptado de Bastida *et al.*, 2006).

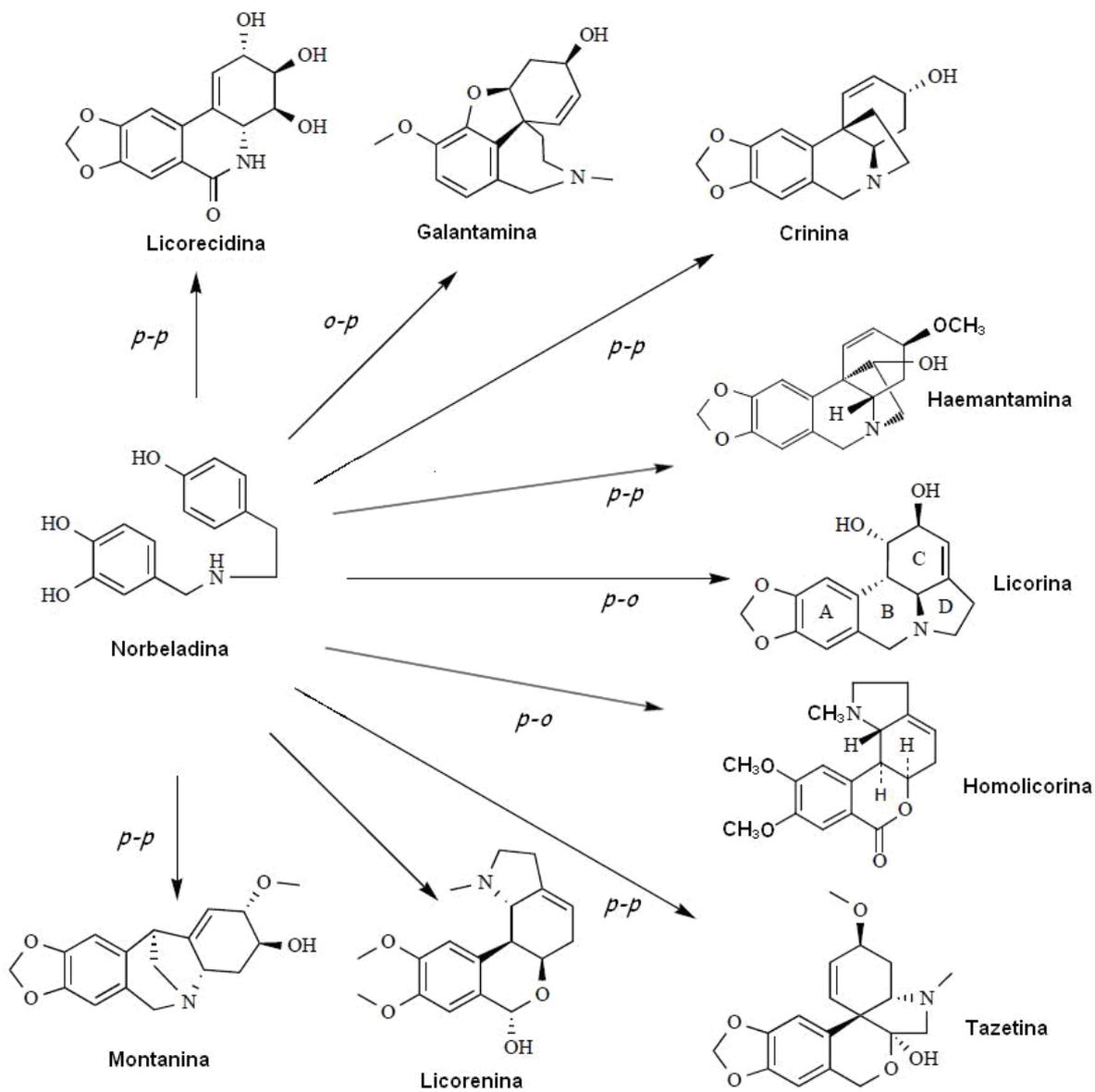


Figura 5 – Estruturas dos esqueletos representativos de cada série química (Adaptado de Lamoral-Theys *et al.*, 2010).

6.3) Atividade citotóxica de alcalóides de Amaryllidaceae.

Através da análise de diversos artigos científicos, foram encontrados muitos estudos que investigam a atividade citotóxica de alcalóides de Amaryllidaceae, principalmente as atividades citotóxica e antiproliferativa frente a células tumorais e normais. Além disso, outros estudos tentam elucidar o mecanismo de ação dessas estruturas relatadas bem como os requisitos farmacofóricos essenciais responsáveis por essa atividade.

6.3.1) Alcalóides tipo *Isocarboستيريل*

Um pequeno subgrupo de alcalóides, extraídos de espécies pertencentes a família Amaryllidaceae, não contém o átomo de nitrogênio básico e são chamados de alcalóides Isocarboستيريل. Os compostos mais conhecidos deste subgrupo são a narciclasina **(1)**, licoricidina **(2)** e pancratistatina **(3)** (**Tabela 1**). Todos estes compostos têm demonstrado potente citotoxicidade contra linhagens de células tumorais *in vitro* e *in vivo*.

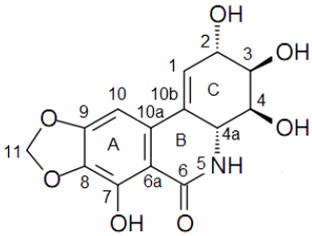
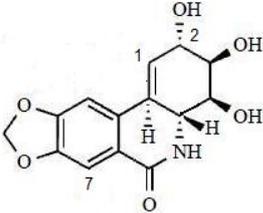
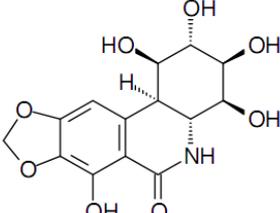
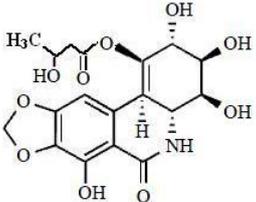
Esse subgrupo de alcalóides é obtido através do acoplamento *para-para* com a posterior eliminação de dois carbonos. O esqueleto representativo para essa classe de compostos é a benzofenantridona hidroxilada (Anel 2) (Ingrassia *et al.*, 2008). Os alcalóides pertencentes a essa série são conhecidos por apresentar uma potente atividade anticâncer, e, ao contrário de muitos quimioterápicos, não são genotóxicos.

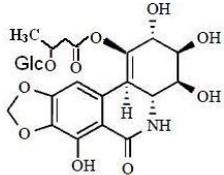
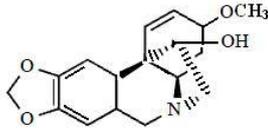
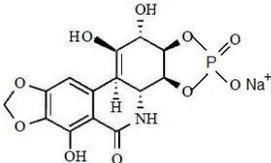
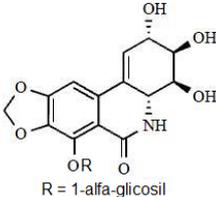
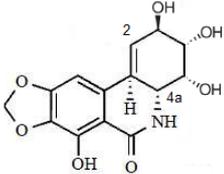
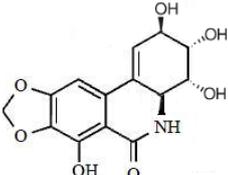
A pancratistatina é um dos principais compostos dessa série química, uma vez que apresenta potente atividade contra células malignas. Entretanto é pouco solúvel em água e possui baixo rendimento nos processos de extração a partir da sua fonte natural e, ainda, existem dificuldades em sua síntese química (Shnyder *et al.*, 2008). A narciclasina, outro alcalóide deste grupo, também exibe expressiva atividade antitumoral. Um dos pontos positivos é que esse composto tem maior abundância na natureza, porém é também insolúvel em água. Isso limita a disponibilidade dos compostos dessa série química para estudos pré-clínicos e

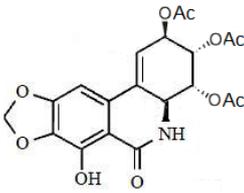
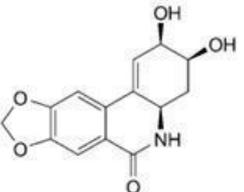
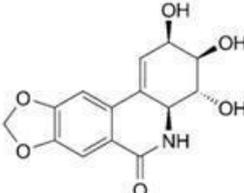
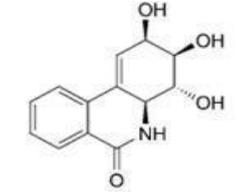
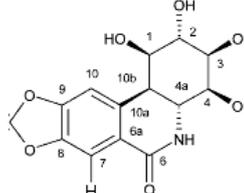
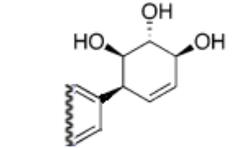
clínicos, e, para contornar esse problema, diversos esforços estão sendo feitos com o objetivo de encontrar um análogo com atividade semelhante, com boa biodisponibilidade e mais hidrossolúvel.

As estruturas químicas dessa série de compostos, bem como as linhagens celulares que foram submetidas a testes com essas substâncias estão resumidas na **Tabela 1**.

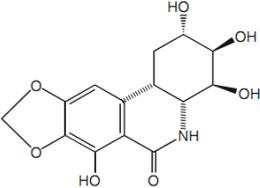
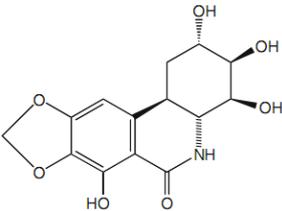
Tabela 1. Estruturas químicas de alguns alcalóides do tipo Isocarboستيريل.

Estruturas	Linhagens celulares testadas	Referências
 <p data-bbox="296 1066 485 1099">Narciclasina (1)</p>	<p data-bbox="587 846 1042 1061">MCF-7; PC3; U373; BxPC3; LoVo; A549; Hs683; GL-19; A-375; A-431; HCT-15; K-562; MDA MB-231; A-549; PA-1; HT-1376; HTB-178; MES-SA; HepG2; DU-145; VeRo; Jurkat; Hela Não tem atividade contra fibroblastos normais (Ccd-25Lu e NHF)</p>	<p data-bbox="1070 880 1401 1028">Dumont <i>et al.</i>, 2007; Ingrassia <i>et al.</i>, 2009; Lefranc <i>et al.</i>, 2009; Matveenko <i>et al.</i>, 2009; Kornienko e Evidente, 2009</p>
 <p data-bbox="301 1350 480 1384">Licoricidina (2)</p>	<p data-bbox="655 1256 967 1290">Células de leucemia P388</p>	<p data-bbox="1134 1261 1337 1294">Pettit <i>et al.</i>, 1993</p>
 <p data-bbox="280 1653 504 1686">Pancratistatina (3)</p>	<p data-bbox="603 1473 1026 1570">Células KB; Hela; P388-D1; SHSY-5Y; MCF-7; PC3; DU145; LNCaP; HT-29; HCT116; HL-60 ; HSC-2</p> <p data-bbox="587 1603 1034 1659">Não tem atividade contra fibroblastos normais (Ccd-25Lu e NHF)</p>	<p data-bbox="1078 1536 1393 1653">Kojima <i>et al.</i>, 1997; McLachlan <i>et al.</i>, 2005; Griffin <i>et al.</i>, 2011; Jitsuno <i>et al.</i>, 2009</p>
 <p data-bbox="272 1928 512 1984">1-O-(3-hidroxybutiril) pancratistatina (4)</p>	<p data-bbox="600 1850 1026 1928">Células KB, Hela e P388-D1; 3Y1 (fibroblastos de embriões de rato) e células HL-60.</p>	<p data-bbox="1102 1843 1366 1899">Kojima <i>et al.</i>, 1997; Mutsunga <i>et al.</i>, 2002</p>

Estruturas	Linhagens celulares testadas	Referências
	<p>Células KB, Hela e P388-D1; 3Y1 (fibroblastos de embriões de rato) e células HL-60.</p>	<p>Kojima <i>et al.</i>, 1997; Mutsunga <i>et al.</i>, 2002</p>
<p>1-O-(3-O-β-D- glicopiranosilbutiril) pancratistatina (5)</p>		
	<p>Células de Jurkat</p>	<p>Griffin <i>et al.</i>, 2007</p>
<p>AMD4/AMD5 (6)</p>		
	<p>DLD-1 e Km2012 (não ativo <i>in vitro</i>), DLD-1 (ativo <i>in vivo</i>)</p>	<p>Shnyder <i>et al.</i>, 2008</p>
<p>3,4-O-fosfato de sódio de pancratistatina cíclico (7)</p>		
 <p>R = 1-alfa-glicosil</p>	<p>PC-3 e U373</p>	
<p>(8)</p>	<p>Em Ccd-25Lu (fibrobrastos normais) não foi ativo</p>	<p>Ingrassia <i>et al.</i>, 2009</p>
	<p>A-375; A-431; HCT-15; K-562; MDA MB-231; A-549 ; PA-1 ; HT-1376; HTB-178; MES-SA; HepG2; DU-145; MCF-7 (Em todas essas linhagens celulares esse composto foi pouco ativo)</p>	<p>Matveenko <i>et al.</i>, 2009</p>
<p>(1(-1)) narciclasina (9)</p>		
	<p>A-375; A-431; HCT-15; K-562; MDA MB-231; A-549 ; PA-1 ; HT-1376; HTB-178; MES-SA; HepG2; DU-145; MCF-7 (Em todas essas linhagens celulares esse composto foi pouco ativo)</p>	<p>Matveenko <i>et al.</i>, 2009</p>
<p>(-(-2)) licoricidina (10)</p>		

Estruturas	Linhagens celulares testadas	Referências
 <p>(11)</p>	<p>A-375; A-431; HCT-15; K-562; MDA MB-231; A-549 ; PA-1 ; HT-1376; HTB-178; MES-SA; HepG2; DU-145; MCF-7 (Em todas essas linhagens celulares esse composto foi pouco ativo)</p>	<p>Matveenko <i>et al.</i>, 2009</p>
 <p>(12)</p>	<p>A-375; A-431; HCT-15; K-562; MDA MB-231; A-549 ; PA-1 ; HT-1376; HTB-178; MES-SA; HepG2; DU-145; MCF-7 (Em todas essas linhagens celulares esse composto foi pouco ativo)</p>	<p>Matveenko <i>et al.</i>, 2009</p>
 <p>(13)</p>	<p>A-375; A-431; HCT-15; K-562; MDA MB-231; A-549 ; PA-1 ; HT-1376; HTB-178; MES-SA; HepG2; DU-145; MCF-7 (Em todas essas linhagens celulares esse composto foi pouco ativo)</p>	<p>Matveenko <i>et al.</i>, 2009</p>
 <p>(14)</p>	<p>A-375; A-431; HCT-15; K-562; MDA MB-231; A-549 ; PA-1 ; HT-1376; HTB-178; MES-SA; HepG2; DU-145; MCF-7 (Em todas essas linhagens celulares esse composto foi pouco ativo)</p>	<p>Matveenko <i>et al.</i>, 2009</p>
 <p>7-deoxypancratistatina (15)</p>	<p>P388; NCI-H460; KM20L2 (pouco ativa nessas células)</p>	<p>Collins <i>et al.</i>, 2010</p>
 <p>Série de análogos do Conduritol F (16)</p>	<p>Células de Jurkat (não ativo)</p>	<p>Kireev <i>et al.</i>, 2006</p>

Estruturas	Linhas celulares testadas	Referências
	Células de Jurkat (não ativo)	Kireev <i>et al.</i> , 2006
Série de análogos do L- <i>chiro</i> -Inositol (17)		
	Células de Jurkat (não ativo)	Kireev <i>et al.</i> , 2006
Série de análogos do Dihidrocondutirol F (18)		
<p data-bbox="392 1099 443 1133">(19)</p>	P388; BxPC-3; MCF-7; SF-268; NCI-H460; Km20L2; Du-145; Jurkat; SHSY5Y Não ativo contra fibroblastos (NHF) e células do sangue mononucleares periféricas (PMBC)	Collins <i>et al.</i> , 2010
<p data-bbox="392 1368 443 1402">(20)</p>	P388; BxPC-3; MCF-7; SF-268; NCI-H460; Km20L2; Du-145; Jurkat; SHSY5Y Não ativo contra fibroblastos (NHF) e células do sangue mononucleares periféricas (PMBC)	Collins <i>et al.</i> , 2010
	Hela, Vero e Jurkat	Kornienko e Evidente, 2009
Tetracetilnarciclasina (21)		
	Hela, Vero e Jurkat	Kornienko e Evidente, 2009
C10b-R-dihidroxiapancratistatina (22)		

Estruturas	Linhagens celulares testadas	Referências
 <p data-bbox="260 539 579 573"><i>cis</i>-dihidronarciclasina (23)</p>	Hela, Vero e Jurkat	Kornienko e Evidente, 2009
 <p data-bbox="244 842 595 875"><i>trans</i>-dihidronarciclasina (24)</p>	Hela, Vero e Jurkat	Kornienko e Evidente, 2009

A atividade citotóxica *in vitro* da narciclasina (**1**), pancratistatina (**3**), licoricidina (**2**), e outros compostos relacionados, foi analisada por Pettit e seus colegas (1993) contra 60 linhas de células tumorais no NCI (*National Cancer Institute*). As linhagens de células não pequenas do pulmão, cólon, cérebro e rim foram sensíveis frente a esses compostos, enquanto as de melanoma foram as mais sensíveis. Nessa pesquisa foi demonstrado também que a atividade da pancratistatina foi distinta das outras classes de drogas antitumorais conhecidas. Isso foi comprovado em outro estudo que mostra que a pancratistatina induz a apoptose em células SHSY-5Y (neuroblastoma humano) em concentração a partir de 1 μ M, mas não em células de fibroblastomas humanos normais (NHF), e após análises comparativas, foi demonstrado que o Etoposide (VP-16) e o Taxol foram tóxicos para essas células normais em concentrações micromolares, o que evidencia a seletividade da pancratistatina (McLachlan *et al.*, 2005). A toxicidade dessas drogas quimioterápicas também foi evidenciada em outra pesquisa comparativa realizada por Pandey e colaboradores (2005) contra fibroblastos humanos e células endoteliais normais.

Recentemente foram avaliados os efeitos da pancratistatina em modelos de câncer de próstata metastático (DU145 e LNCaP). A apoptose foi evidenciada pela

condensação nuclear e ativação de caspases. Tecidos da próstata humana foram enxertados em ratos para testar a eficácia potencial terapêutica após intra-administração de pancratistatina *in vivo*. Os resultados indicam que esse alcalóide reduziu a viabilidade celular e induziu a apoptose nessas duas linhagens de células de maneira dose-dependente, mas não exibiu efeito significativo sobre fibroblastos humanos normais (NHF). Foi descoberto ainda que o tratamento com esse isocarbostiril causou a diminuição da capacidade de migração e aumento dos níveis de autofagia em células de próstata metastáticas (Griffin *et al.*, 2011). Em complemento a esse estudo, Griffin e colaboradores (2011) testaram esse alcalóide *in vivo* contra linhagens celulares de carcinoma colorretal, HT-29 e HCT116, e em células de fibroblastos de cólon não tumoral, CCD-18Co. Os resultados foram coerentes com os anteriores, apontando que a pancratistatina induz a apoptose em células cancerosas e não induz em células normais e, ainda, reduz significamente o crescimento tumoral.

Os análogos da pancratistatina (**3**), 1-O-(3-hidroxitiril)pancratistatina (**4**) e 1-O-(3-O- β -D-glicopuranosilbutiril)pancratistatina (**5**) mostraram potente atividade contra as células KB (carcinoma epidermóide humano), Hela (carcinoma epitelial humano) e P388-D1 (neoplasma linfóide de ratos). Todos foram ativos, porém o composto **4** apresentou citotoxicidade três vezes maior que a pancratistatina (Kojima *et al.*, 1997). Os análogos **4** e **5** também apresentaram, em outro estudo, atividade citostática contra fibroblastos de embriões de ratos 3Y1 e células de leucemia HL-60 (Mutsuga *et al.*, 2002)

Quinze análogos aromáticos de condutirol F (**16**), L-*chiro*-inositol (**17**) e Dihidrocondutirol F (**18**) foram avaliados quanto sua atividade citotóxica contra células de leucemia humana Jurkat e foram inativos. Esses análogos possuem quatro dos seis estereocentros da pancratistatina mantendo a estereoquímica correta em C10a e C10b, porém sem o anel β -lactâmico (Kireev *et al.*, 2006).

Os compostos naturais relacionados à pancratistatina, que conservam o esqueleto fenantridona e possuem o grupo metóxi que varia de orientação entre AMD4 α (**6**) e AMD5 β (**6**), foram testados contra células de leucemia. Somente o

AMD5 β teve eficácia semelhante à pancratistatina nessas células, embora em uma concentração dez vezes maior (Griffin *et al.*, 2007).

Foram sintetizados análogos C1 da 7-deoxipancratistatina (**15**), e estes foram avaliados por sua atividade biológica contra várias linhagens de células cancerosas P388 (leucemia de ratos), BxPC-3 (carcinoma pancreático), MCF-7 (câncer de mama), SF-268 (câncer do SNC), NCI-H460 (câncer de pulmão), Km20L2 (carcinoma colorretal, Du-145 (câncer de próstata), Jurkat (leucemia humana), SHSY5Y (neuroblastoma humano), bem como seu efeito de induzir a apoptose. Os derivados **19** e **20** se apresentaram promissores contra diversas linhagens de células e também bons indutores de apoptose, embora com potências antiproliferativas menores que a pancratistatina (**3**) e narciclasina (**1**). Mesmo possuindo atividade menor que alguns alcalóides naturais isocarbostris, os compostos **19** e **20** possuem atividade antiproliferativa tão boa ou melhor que a 7-deoxipancratistatina. O mais importante, no entanto, é que o composto (**20**) possui capacidade de induzir a apoptose em células cancerosas, mas não induz em células não cancerosas humanas, tais como fibroblastos (NHFs) e células do sangue mononucleares periféricas (PMBC) (Collins *et al.*, 2010).

Em um dos estudos de síntese de análogos da pancratistatina, Shnyder e seus colaboradores (2008) sintetizaram o 3,4-O-fosfato de sódio de pancratistatina cíclico (**7**). Este análogo exibiu baixa atividade citotóxica *in vitro* contra células de carcinoma colorretal (DLD-1 e Km2012), provavelmente por não ter fosfatases disponíveis, mas em estudos *in vivo* esse composto causou atrasos no crescimento tumoral significativo na dose máxima tolerada contra células DLD-1.

A narciclasina induziu a apoptose em células de câncer de mama (MCF-7) e carcinoma de próstata (PC-3) ativando as caspases em uma concentração de 1 μ M, mas não exibiu citotoxicidade em fibroblastos normais em um estudo realizado por Dumont e colaboradores (2007).

A atividade da narciclasina foi demonstrada em ensaios pré-clínicos pela primeira vez em 2009, onde ela foi testada contra modelos de glioblastoma humano (U373 e Hs683) enxertado em ratos. O estudo demonstrou que a narciclasina é

capaz de atravessar a barreira hematoencefálica, pois o tratamento com doses atóxicas desse alcalóide aumentou a sobrevivência dos ratos, e, ainda os seus efeitos antitumorais são da mesma magnitude da Temozolomida² (Lefranc *et al.*, 2009).

Com o intuito de melhorar atividade citotóxica *in vivo* da narciclasina, foram obtidos vários análogos sintéticos desse alcalóide, mas não se obteve sucesso, pois os derivados são instáveis, ou estáveis e sem atividade. Com isso, uma estratégia de obter um pró-fármaco foi investigada. A narciclasina exibiu perfil antiproliferativo e inibição de migração das células *in vitro* com valores de IC₅₀ entre 30-90 nM contra as linhagens celulares PC-3 (carcinoma de próstata), U373 (glioblastoma) , BxPC-3 (carcinoma pancreático), LoVo (câncer colorretal), A549 (carcinoma de não pequenas células do pulmão) e MCF-7 (câncer de mama), mas em testes *in vivo* não aumentou significativamente a sobrevivência dos ratos que foram enxertados com duas linhagens celulares de glioblastoma humano (Hs683 e GL-19). Em contrapartida, o seu derivado hemisintético **(8)** aumentou significativamente a sobrevivência em ambos os modelos, com uma dose de 1 mg/Kg por dia, em via oral e IV. Adicionalmente, foi observado ainda que esse pró-fármaco aumenta a biodisponibilidade oral da narciclasina em aproximadamente 52% (Ingrassia *et al.*, 2009).

Em um estudo recente, as atividades da narciclasina e seu derivado sintético *trans*-dihidronarciclasina **(24)** sobre o citocromo P-450 foram relatadas. Esse derivado da narciclasina é um alcalóide natural, de ocorrência pouco comum, e ele foi sintetizado a partir da hidrogenação seletiva da narciclasina com um rendimento de 50%. A narciclasina possui ação de inibição sobre o CYP3A4³ humano, mas seu análogo demonstrou não possuir ação sobre esse citocromo e nem sobre os citocromos CYP19 e CYP141. Este estudo ilustra o fato da *trans*-dihidronarciclasina ser uma molécula altamente privilegiada, de fácil acesso e com atividade anticâncer potente e seletivo (McNulty *et al.*, 2011).

² Droga associada aos maiores benefícios terapêuticos no tratamento do glioblastoma humano em pacientes (Lefranc *et al.*, 2009).

³ É uma isoenzima pertencente a subfamília Cyp3A, que compreende 30% do complexo enzimático citocromo P450 hepático. O CyP3A4 é responsável pela metabolização de 60% das classes de medicamentos (Nelson *et al.*, 2004). A inibição de essa isoenzima pode levar ao acúmulo de drogas, podendo causar interações negativas e levar a toxicidade hepática.

6.3.1.1) Relação estrutura-atividade

A relação estrutura-atividade também é relatada em vários estudos que apontam possíveis farmacóforos responsáveis pela atividade anticâncer dos alcalóides isocarbostiril. O farmacóforo citotóxico mínimo já relatado desses compostos é conhecido por compor o sistema de anéis B/C *trans*-fundido contendo as unidades 2,3,4 –tríol no anel C. Os derivados 2,3-diol têm significativa atividade, indicando que a hidroxila no C3 é um moderador. As funções fenólicas em C7 e as hidroxilas em C1 não são essenciais (McNulty *et al.*, 2001; Pettit *et al.*, 2004; Pettit *et al.*, 2006). A importância do anel B foi abordada por Chapleur e seus colaboradores ainda em 1993, que mostraram que os análogos da licoricidina (**2**) com a abertura do anel B (Chrétien *et al.*, 1993) ou o grupo éster em vez do grupo amida (Ibn-Ahmed *et al.*, 2004), ambos foram destituídos de atividade. Além disso, Hudlicky e colaboradores, em 2002, sintetizaram o epímero C10b do 7-desoxipancratistatina e descobriu que era inativo. Isso pode indicar que a configuração na posição C10b é crítica para a atividade (Rinner *et al.*, 2002; Hudlicky *et al.*, 2002). Outros estudos apontam que o esqueleto fenantridona em alcalóides naturais de Amaryllidaceae pode ser um elemento comum importante para a seletividade contra as células cancerosas, e, ainda, a configuração dos grupos metóxi podem ser os responsáveis pela maior afinidade de ligação ao sítio de ação (Kireev *et al.*, 2006; Griffin *et al.*, 2007). O efeito citotóxico da narciclasina (**1**) foi semelhante ao seu derivado hemisintetizado, o composto 8. Testes *in vivo* em ratos identificaram o composto (**8**) como um possível pró-fármaco, pois ele transforma-se em narciclasina sob condições fisiológicas (Ingrassia *et al.*, 2009). Foi provado ainda que a forma enantiomérica natural da narciclasina ((+) -1) foi ativa contra algumas linhagens celulares de câncer, enquanto as formas não naturais enantioméricas de narciclasina ((-) -1) (**9**) e da licoricidina ((-) -2) (**10**) e alguns congêneres (**11-14**), foram pouco ativos. Estes compostos variam de natureza e grau de substituição dos anéis A e C, na configuração de alguns substituintes e possuem a configuração não natural em C2 e C4a (Matveenko *et al.*, 2009). A derivatização em C1 mostrou ter um efeito benéfico frente à atividade citotóxica, ainda mais se o substituinte é um grupo lipofílico, pois a polaridade em C1 demonstrou não ser muito tolerada (Collins *et al.*, 2010).

6.3.1.2) Mecanismo de ação

Diversos mecanismos de ação foram sugeridos com a finalidade de explicar a atividade citotóxica desses alcalóides não básicos. Vários deles apontam que a mitocôndria das células cancerosas é afetada, e assim, induz essas células malignas à apoptose (McLachlan *et al.*, 2005), pela inibição da progressão G0/G1 para a fase S no ciclo celular (Mutsuga *et al.*, 2002) ou aumento de espécies reativas de oxigênio (ROS) nas células de câncer (McLachlan *et al.*, 2005). Outro mecanismo proposto foi o desencadeamento e a ativação das caspases iniciadoras (caspase 8 e 10) nas linhagens celulares MCF-7 (câncer de mama) e PC-3 (carcinoma de próstata). Essas caspases, quando ativadas, interagem com os receptores Fas e DR4 ativando as caspases efetoras que possuem o domínio da morte, como a caspase 3, induzindo a célula a apoptose (Dumont *et al.*, 2007). Em um estudo *in vivo*, utilizando, o 3,4-O-fosfato de sódio cíclico de pancratistatina (**32**), análogo da pancratistatina, foi observada desligamento vascular e necrose tumoral em células tumorais (Shnyder *et al.*, 2008). Observou-se também que os alcalóides narciclasina e pancratistatina possuem a atividade citostática, em vez de citotóxica, e inibem a proliferação e a migração de células cancerosas pela desorganização do citoesqueleto de actina. Em contrapartida ao que foi citado antes, esse estudo sugere que a indução de apoptose pode não ser a principal via pelas quais os alcalóides tipo Isocarboestiril de Amaryllidaceae exercem sua atividade *in vitro*. A atividade desses alcalóides pode estar relacionada com o aumento na concentração de Actina F. Esta, por sua vez, pode paralisar o citoesqueleto de actina e, assim, prejudicar tanto a célula em proliferação quanto a em migração (Ingrassia *et al.* 2009; Lefranc *et al.* 2009). Outro possível mecanismo foi relatado tratando células de glioblastoma multiforme com narciclasina. Esse alcalóide diminui os níveis mitóticos sem induzir a apoptose, pois ele modula a atividade da Rho⁴/Rho quinase/LIM quinase/cofilin aumentando a atividade da GTPase RhoA e induzindo, assim, a formação de fibras de estresse de actina de maneira RhoA-dependente (Lefranc *et al.*, 2009).

⁴ A família das GTPases Rho é uma classe de proteínas que atua na regulação de vários processos celulares essenciais. Um dos papéis funcionais mais relevantes das GTPases Rho está relacionado com a organização do citoesqueleto, e das fibras de estresse necessárias para a movimentação celular (Heasman e Ridley, 2008).

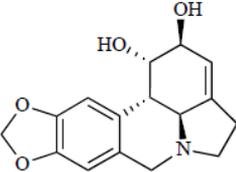
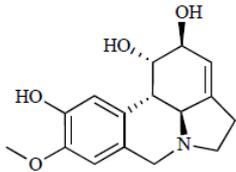
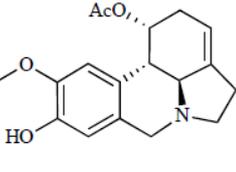
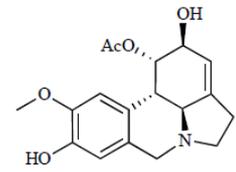
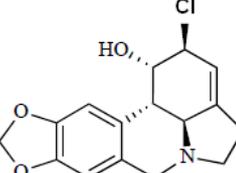
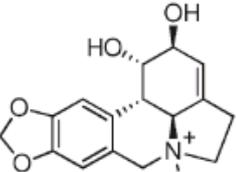
6.3.2) Alcalóides tipo Licorina

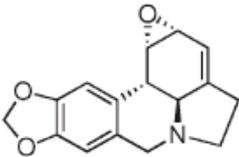
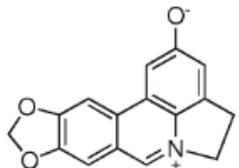
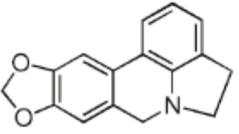
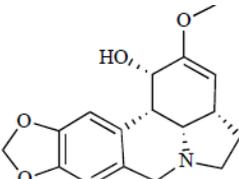
A licorina é o alcalóide mais abundante encontrado em espécies de Amaryllidaceae. Esse composto pertence ao grupo que comporta o Anel 1 e possui o esqueleto pirrolo[de]fenantridina. Esse alcalóide está relacionado a diversas atividades farmacológicas já relatadas. Entre elas estão a atividade antifúngica (Evidente *et al.*, 2004), antiinflamatória (Citoglu *et al.*, 1998), antimalárica (Campbell *et al.*, 1998), antiparasitária (Giordani *et al.*, 2011) e antiviral (Zou *et al.*, 2009). Além disso, a licorina tem demonstrado ter uma promissora atividade antitumoral, o que é relatado em vários estudos.

Juntamente com a licorina, estão diversas estruturas que possuem o mesmo tipo de esqueleto químico, entre elas estão a amarbelisina, caranina, galantina, pseudolicorina, norpluvina e ungeremina, entre outras. As diferenças nas atividades anticâncer nesta série química foram relatadas em diversas pesquisas que comparam as atividades *in vivo* e *in vitro* de compostos pertencentes ao esqueleto tipo licorina, com o objetivo de elucidar um farmacóforo ideal para a atividade antitumoral. As estruturas químicas dos compostos desse subgrupo e as linhagens celulares utilizadas para os testes de citotoxicidade estão resumidos na **Tabela 2**.

A licorina (**25**) possui atividade citotóxica contra linhagens celulares de leucemia tipo HL-60 em concentrações até 2,5 μM , onde a sobrevivência dessas células diminuiu de forma dose-dependente. (Liu *et al.*, 2004). A licorina (**25**) e a pseudolicorina (**26**) apresentaram atividade citotóxicas, induzindo a apoptose em concentrações micromolares, contra células de leucemia Jurkat (McNulty *et al.*, 2009). Outros alcalóides dessa série extraídos da espécie *Brunsvigia radulosa*, a 1-O-acetilnorpluvina (**27**) e sterbergina (**28**), foram testadas contra células de melanoma BL-6 de camundongos. O composto 27 mostrou forte atividade citotóxica, enquanto o composto 28 mostrou modesta atividade (Campbell *et al.*, 2000).

Tabela 2. Estruturas químicas dos alcalóides pertencentes ao anel 1.

Estruturas	Linhagens celulares testadas	Referências
 <p>Licorina (25)</p>	<p>HL-60; Jurkat; B16F10; OE21; SKMEL-28; U373 Hs683; A549; K562, U937;</p> <p>Pouco ativa nas células normais (WI38, WS1 e NHDF)</p>	<p>Liu <i>et al.</i>, 2004; McNulty <i>et al.</i>, 2009; Lamoral-Theys <i>et al.</i>, 2009; Liu <i>et al.</i>, 2009;</p>
 <p>Pseudolicorina (26)</p>	<p>Células de leucemia Jurkat;</p>	<p>McNulty <i>et al.</i>, 2009</p>
 <p>1-O-acetilmorpluvina (27)</p>	<p>Melanoma BL-6 de camundongos;</p>	<p>Campbell <i>et al.</i>, 2000</p>
 <p>Sterbergina (28)</p>	<p>Melanoma BL-6 de camundongos (modesta atividade);</p>	<p>Campbell <i>et al.</i>, 2000</p>
 <p>Cloridrina de licorina (29)</p>	<p>B16F10; OE21; U373; Hs683; A549;</p>	<p>Lamoral-Theys <i>et al.</i>, 2009;</p>
 <p>Cloridrato de licorina (30)</p>	<p>B16F10; OE21; SKMEL-28; U373 Hs683; A549;</p>	<p>Lamoral-Theys <i>et al.</i>, 2009;</p>

Estruturas	Linhagens celulares testadas	Referências
	B16F10; OE21; SKMEL-28; U373 Hs683; A549;	Lamoral-Theys <i>et al.</i> , 2009;
1,2-α-epoxilicorina (31)	Células U373;	Lamoral-Theys <i>et al.</i> , 2009;
	Pouco ativa contra células normais (WI38, WS1 e NHDF)	Lamoral-Theys <i>et al.</i> , 2009;
Ungeremina (32)	OE21;; U373 Hs683; A549;	Lamoral-Theys <i>et al.</i> , 2009;
	Pouco ativa contra células normais (WI38, WS1 e NHDF)	Lamoral-Theys <i>et al.</i> , 2009;
Anidrollicorina (33)	B16F10; OE21; SKMEL-28; U373 Hs683; A549;	Lamoral-Theys <i>et al.</i> , 2009;
	B16F10; OE21; SKMEL-28; U373 Hs683; A549;	Lamoral-Theys <i>et al.</i> , 2009;
Amarbelisina (34)		

Vinte e dois compostos relacionados com a licorina foram investigados quanto a sua atividade antitumoral *in vitro* (dose de até 10 μM) contra quatro linhas de células de câncer resistentes à apoptose, A549 (carcinoma de células não pequenas do pulmão), OE21 (células do esôfago), SKMEL-28 (melanoma humano), U373 (glioblastoma de origem astrocitária), e duas linhagens celulares de câncer sensíveis a estímulos pró-apoptóticos: Hs683 (Oligodendroglioma anaplásico) e B16F10 (melanoma de ratos). Licorina e seis de seus congêneres exibiram atividade em doses micromolares, mas nenhum foi mais ativo que a licorina. Além disso, a licorina exibe sua atividade 15 vezes mais pronunciada em células de câncer em comparação com células normais (WI38, WS1 e NHDF). Sua atividade é exercida

por efeitos citostáticos, em vez de citotóxicos, apresentando atividade citostática independente de a célula ser resistente ou sensível a apoptose e, ainda, é ativa contra células cancerosas que crescem sob condições de fixação independente (Lamoral-Theys *et al.*, 2009). Ela demonstrou ser capaz de proporcionar benefícios terapêuticos significativos em modelos de melanoma agressivo do cérebro B16F10, em doses que não sejam tóxicas, através de testes *in vitro* em ratos (Lamoral-Theys *et al.*, 2009). Os seis congêneres da licorina que apresentaram atividade nesse estudo foram a cloridrina de licorina **(29)** e 1,2- α -epoxilicorina **(31)**, que provavelmente são convertidos *in vivo* na licorina por substituição nucleofílica com a água; ungeremina **(32)** e anidrolicorina **(33)**, que são ativas contra algumas das linhagens de células cancerosas (vale destacar que eles são ativos contra as células independentemente das mesmas serem sensíveis ou resistentes à apoptose); cloridrato de licorina **(30)**, pseudolicorina **(26)** e amarbelisina **(34)** que apresentaram potencial de inibição de crescimento muito semelhante aos da licorina em todas as linhagens celulares de câncer estudados.

A proteína Mcl-1 desempenha um papel fundamental na sobrevivência das células hematopoiéticas malignas. Partindo dessa observação, Liu e colaboradores (2009) relataram que a licorina induz a apoptose em linhas celulares de leucemia humana (K562, U937, HL-60) por agir nas mitocôndrias dessas células cancerosas, diminuindo os níveis de Mcl-1. A diminuição dos níveis dessa proteína acontece provavelmente através da inibição traducional do gene que a codifica, levando a uma diminuição rápida da quantidade da proteína Mcl-1 em células de leucemia. Também foi verificado que a licorina suprimiu eficazmente o crescimento de linhas celulares Imatinibe⁵-resistentes K562/G01 (Liu *et al.*, 2009).

⁵ Mesilato de Imatinibe (Glivec[®]) é aprovado para tratar um câncer raro chamado de Leucemia Mielóide Crônica, conforme a FDA (*Food and Drug Administration*).

6.3.2.1) Relação estrutura-atividade

Ungeremina (**32**) e outros análogos sem o anel D da licorina ou com um carbono a mais nesse anel, foram testados contra células de leucemia de ratos. A partir desse estudo, foram realizadas análises na relação estrutura-atividade desses compostos e constatou-se que a planaridade das moléculas é importante para a atividade antineoplásica, para uma possível interação com o DNA, bem como a carga positiva sobre o nitrogênio, que não deve ser estericamente dificultada, e ainda a presença de funções alcóxi em posições adequadas são fundamentais (Zee-Cheng *et al.*, 1978). O 1,2-diol é um requisito farmacofórico importante, o mesmo podemos observar na atividade demonstrada da pancratistatina, observando que a natureza da região do anel C é crítica (McNulty *et al.*, 2009), bem com a junção do anel C e D são características estruturais importantes para essa atividade biológica (Lamoral-Theys *et al.*, 2009). Em comparação com a licorina, amarbelisina incorpora uma estereoquímica alterada na junção C e D além de modificação no anel C, mas preserva a natureza nucleofílica do C1/C2, o que provavelmente é responsável pela atividade. A abertura do anel em C3 resulta na retenção total da atividade antiproliferativa da pseudolicorina em algumas linhagens celulares de câncer. Adicionalmente, foi observado. nesse mesmo estudo, que a acetilação da hidroxila-C1 da licorina, formando o 1-O-acetillicorina, pode predizer que é um pró-fármaco, e a indução fraca da apoptose em células Jurkat, por esse derivado pode ser explicada pelo tratamento de 24 h, já que pode ser insuficiente para a completa remoção hidrolítica do éster acetato (Goietsenoven *et al.*, 2010).

6.3.2.2) Mecanismo de ação

Vários mecanismos de ação têm sido demonstrados para explicar a atividade antitumoral da licorina e seus congêneres. Um desses mecanismos sugere a inibição da biossíntese de proteínas (Jimenez *et al.*, 1976), o que foi posteriormente contestado por alguns experimentos que mostraram que não possui efeito inibidor (Vrijssen *et al.*, 1986) e outros que demonstraram que esses alcalóides não inibem a formação da ligação peptídica apesar de ligar-se ao ribossomo em certas condições (Kukhanova *et al.*, 1983). Paralelamente, alguns relatos indicam que a licorina

interfere na biossíntese da vitamina C (Arrigoni *et al.*, 1975) e outros demonstram efeitos pró-apoptóticos induzidos por esse alcalóide (Liu *et al.*, 2004; Li *et al.*, 2007; Liu *et al.*, 2009; McNulty *et al.*, 2009), e efeitos anti-apoptóticos contra a calprotectina⁶ derivada dos leucócitos polimorfonucleares, possivelmente por inibição da tradução dessa proteína (Yui *et al.*, 1998). Outro mecanismo identificado para a licorina foi a interrupção do ciclo celular (Li *et al.*, 2007; Yui *et al.*, 1998), esse mecanismo também foi atribuído para a ungerimina. Este possui a capacidade de inibir especificamente a topoisomerase II (Barthelmes *et al.*, 2001). Além disso, licorina tem se demonstrado um regulador das proteínas pró-apoptóticas (caspases 8, 9 e 3) e ativação associada ao receptor da morte Fas desencadeando, assim, o mecanismo de apoptose (Griffin *et al.*, 2007; McLachlan *et al.*, 2005; Liu *et al.*, 2009). Esse mecanismo foi comprovado em outro experimento que provou que a licorina é capaz de parar o ciclo celular na fase G2/M, onde foi observado um aumento de células nessas fases, e induzir a apoptose, através da diminuição do nível dos genes *Bcl-2* e aumento de *Bax*, causando assim a ativação das caspases 8,9 e 3 (Liu *et al.*, 2004; 2006). Esse alcalóide diminui os níveis da proteína Mcl-1, que é uma proteína fundamental na sobrevivência das células hematopoiéticas malignas, desencadeando apoptose em algumas linhagens de células de leucemia humana, provavelmente por inibir a tradução dessa proteína (Liu *et al.*, 2009). E finalmente, a licorina provou também ser capaz de interagir com o DNA, ligando-se às bases adenina e guanina (Karadeniz *et al.*, 2003).

Além disso, alguns estudos apontam que a atividade da licorina é citostática, ao invés de citotóxica, e, ainda, essa atividade é independente da célula de câncer ser resistente ou sensível ao mecanismo de morte celular por apoptose. Partindo dessa observação, há relatos que esse alcalóide modifica a organização do citoesqueleto de actina em células do câncer tornando-a mais rígida, e ao fazê-lo prejudica significativamente a proliferação e migração da célula cancerosa (Lamoral-Theys *et al.*, 2009). Esse mecanismo já tinha sido proposto para a narciclasina em relatos anteriores.

⁶ É uma proteína ligadora de cálcio e zinco, produzida nos leucócitos polimorfonucleares, que tem a capacidade de induzir a inibição do crescimento e morte celular por apoptose em diversas células tumorais ou normais, como fibroblastos, podendo causar destruição tecidual em inflamações severas (Mikami *et al.*, 1999).

6.3.3) Alcalóides tipo crinina e haemantamina

Essa série química é pertencente ao Anel 2 e possui o esqueleto 5,10 β -etanofenantridina. Além da crinina (**35**) e haemantamina (**36**) este dois subgrupos comportam a haemantidina (**37**), crinamina (**38**), bufanisina (**39**), bufanamina (**40**), vitatina (**41**), ambelina (**42**) (**Figura 6**), entre outros compostos que possuem esse esqueleto. Estes alcalóides foram destacados por apresentarem uma gama de fatores biológicos (Tram *et al.*, 2002). Embora existam poucos relatos, a citotoxicidade contra células tumorais também já foi descrita. A crinamina mostrou ser citotóxica contra várias linhas de células tumorais (Likhitwitayawuid *et al.*, 1993); a haemantamina inibe a síntese de proteínas e tem ação antiproliferativa (Jimenez *et al.*, 1976; Hohmann *et al.*, 2002). A ambellina (**42**) tem uma fraca atividade antiproliferativa (IC₅₀ > 50 μ m) em células HeLa e Vero (Evidente *et al.*, 2009) e em linhas de células Molt4 e HepG2 (Weniger *et al.*, 1995), mas possui forte atividade inibitória contra a leucemia linfocítica murina P-388 na concentração de 4,8 μ M (Pettit *et al.*, 1984). A 11-O-Acetilambelina (**45**) demonstrou atividade citotóxica contra células de melanoma BL6 de ratos (Campbell *et al.*, 1998).

Há relatos confirmando a capacidade de indução a apoptose dos alcalóides tipo crinamina (**38**), haemantamina (**36**) (com 25 μ M, em 48 horas) e a vitatina (**41**) (McNulty *et al.*, 2007, 2009). Os compostos **38** e **36** induziram a apoptose em hepatoma de fígado de ratos (5123TC), mas não em uma linha de células não-cancerosas humana, as células embrionárias de rim (HEK-293T). Essa potência citotóxica e seletividade, embora tenha sido menor, é semelhante à encontrada na pancratistatina em relatos anteriores. A morte celular por apoptose foi confirmada pela inversão da fosfatidilserina na porção externa da membrana e pela ativação da caspase 3 (McNulty *et al.*, 2009). Já a vitatina (**41**) demonstrou atividade citotóxica moderada contra células de adenocarcinoma de cólon HT29, carcinoma do pulmão H460, e carcinoma renal RXF393 com concentrações molares de 80,8 μ M, 58,6 μ M e 109,1 μ M, respectivamente (Silva *et al.*, 2008).

Os alcalóides bioativos extraídos da espécie *Crinum zeylanicum*, crinina (**35**), 6-hidroxibufanidrina (**43**) e 6-etoxibufanidrina (**44**) mostraram efeitos antiproliferativos contra linhagens celulares de tumor, sendo que a crinina foi a mais

ativa ($IC_{50} = 14,04 \mu M$) contra células HL-60. Essa substância induziu a apoptose de maneira dose-dependente contra as linhagens celulares HL-60 e MDA-MB-231 (Berkov *et al.*, 2011).

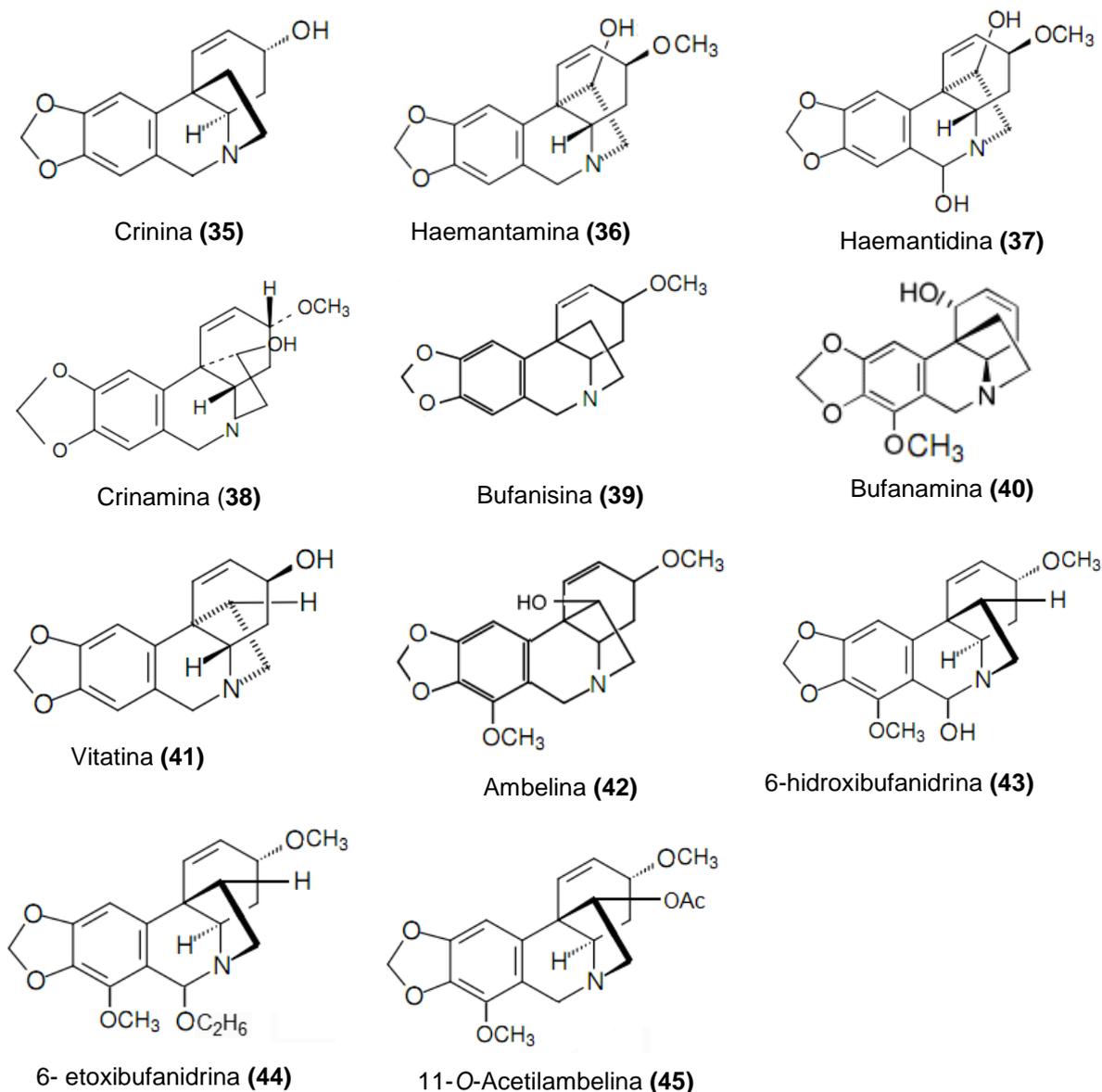


Figura 6. Estruturas químicas dos alcaloides tipo Crinina e Haemantamina.

Após serem isoladas de extratos metanólicos da espécie *Habranthus brachyandrus*, a haemantamina (36) e haemantidina (37), juntamente com a pancratistatina e outros compostos, foram submetidas ao *screening* citotóxico contra

células HL-60 (leucemia promielocítica humana) e células HSC-2 (carcinoma de células escamosas orais). Somente os isolados haemantamina, haemantidina e pancratistatina mostraram potente atividade citotóxica contra essas duas linhagens celulares quando comparados com os quimioterápicos Etoposídeo e Cisplatina (**Tabela 3**), e são considerados os principais contribuintes para a citotoxicidade da fração eluída com metanol (Jitsuno *et al.*, 2009).

Tabela 3. Atividade citotóxica dos compostos Haemantamina, Haemantidina, Pancratistatina, Etoposídeo e Cisplatina contra células HL-60 e células HSC-2 (Adaptado de Jitsuno *et al.*, 2009).

Compostos	IC_{50} (μM)	
	Células HL-60	Células HSC-2
Haemantamina	2,0 \pm 0,05	33,2 \pm 3,19
Haemantidina	2,0 \pm 0,09	13,3 \pm 0,14
Pancratistatina	0,16 \pm 0,003	1,1 \pm 0,14
Etoposídeo	0,34 \pm 0,003	17,2 \pm 1,48
Cisplatina	1,2 \pm 0,09	15,6 \pm 0,04

6.3.3.1) Relação estrutura-atividade

A relação estrutura-atividade demonstrou a exigência, para ambos compostos, de uma ponte alfa em C2 e uma hidroxila livre na posição C11. O substituinte α ou β -metóxi ou β -hidroxi em C3 são toleradas, mas a adição de um substituinte C-3 α reduziu a atividade citotóxica (McNulty *et al.*, 2007; Jitsuno *et al.*, 2009). Além disso, foi descoberto como requisito farmacofórico para essa atividade a exigência de ter uma ponte α -etano em C3 e substituintes pequenos, como H ou OH, são tolerados em C11. A dupla ligação entre C1 e C2 não é requisito para a atividade de indução da apoptose (McNulty *et al.*, 2009), porém essa observação é contraditória, pois em outro estudo verificou-se que a hidrogenação da dupla ligação entre C1 e C2 diminui a atividade antiproliferativa dessa série química e as substituições no C6, C8 e C11 afetam sua atividade (Berkov *et al.*, 2011). Em outro estudo, porém, verificou-se que um grupo hidroxila em C6 não afetou atividade antiproliferativa (Jitsuno *et al.*, 2009).

6.3.5) Alcalóides tipo pretazetina

A tazetina (**46**) e a pretazetina (**47**) (**Figura 7**) também são importantes alcalóides pertencentes ao Anel 2. Apesar de não haver muitos relatos sobre sua potência citotóxica, verifica-se em alguns trabalhos que esses alcalóides possuem significativa atividade antitumoral.

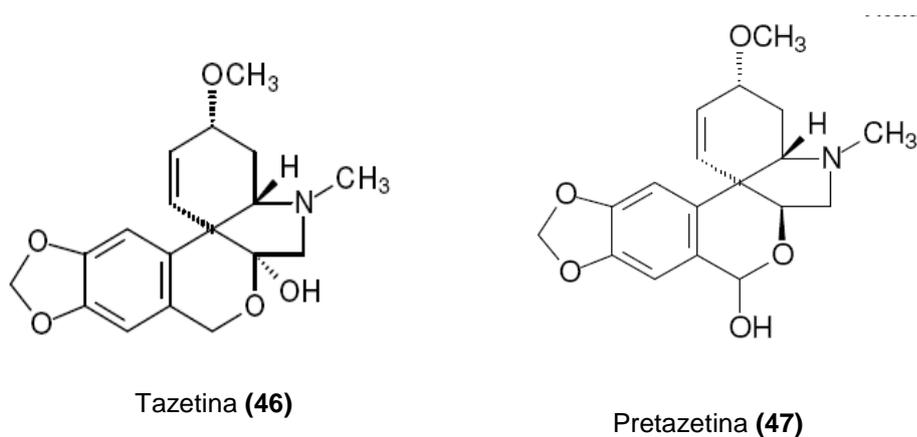


Figura 7. Estrutura química dos alcalóides tazetina (46) e pretazetina (47).

Em um estudo a tazetina foi avaliada quanto sua atividade antiproliferativa e ainda, a capacidade ou não de inibir a atividade da glicoproteína P⁷. Os resultados demonstraram que a tazetina exibiu efeito citostático sobre as células L5178 MDR, mas não foi observado nenhum efeito desse alcalóide sobre a Glicoproteína-P (Hohmann *et al.*, 2002). Porém, uma outra pesquisa mais recente, demonstrou que a pretazetina inibiu a atividade da glicoproteína P e aumentou o efeito da doxorubicina contra células de linfoma resistente de ratos, e ainda ela foi potente sobre as células cancerosas humanas e sobre as células de linfoma em ratos, sendo seu efeito comparável com o da cisplatina (Zupko *et al.*, 2009). A pretazetina foi o mais ativo, entre os 25 alcalóides testados, sobre as células linfóides Molt4 e foi inativo contra o hepatoma HepG2 (**Tabela 4**) porém, ela também demonstrou atividade citotóxica contra células fibroblásticas normais LMTK.

⁷ São proteínas transportadoras, também conhecidas como ABCB1, responsáveis pelo desenvolvimento do mecanismo de resistência às drogas (Zupko *et al.*, 2009).

Tabela 4. Efeito citotóxico dos compostos tazetina, pretazetina e Sulfato de vincristina.

Alcalóides	Linhagens celulares (ED ₅₀ µg/mL)		
	Molt 4	LMTK	HepG2
Tazetina	>50	3,2	>50
Pretazetina	0,3	0,7	>50
Sulfato de vincristina	0,04	0,01	0,01

6.3.6) Atividade citotóxica de extratos de plantas da família *Amaryllidaceae*

Até agora foram abordados somente aspectos da atividade antitumoral de alcalóide isolados, porém existem relatos de experimentos utilizando extratos de espécies dessa família de plantas que também é de fundamental importância para o *screening* citotóxico, pois as substâncias presentes nos extratos podem, em conjunto, favorecer a atividade anticâncer.

Alguns curandeiros tradicionais na Geórgia podem tratar, com sucesso, o câncer com drogas à base de plantas. A partir dessa observação, Jokhadze e colaboradores (2007) publicaram um trabalho onde avaliaram a atividade citotóxica *in vitro* de nove extratos metanólicos das espécies dos gêneros *Galanthus* e *Leucojum*, que são usados na medicina tradicional da Geórgia contra as linhagens celulares de carcinoma cervical epitelial (Hela), carcinoma de cólon (HCT-116) e leucemia mielóide aguda (HL-60). Os extratos metanólicos de bulbos de *Galanthus woronowii*, *Galanthus krasnowii*, *Galanthus shaoricus*, *Galanthus alpinus* e *Leucojum aestivum* foram os mais citotóxicos para células HCT-116. Entretanto, os extratos metanólicos de *Galanthus platyphyllus* foram mais ativos contra células Hela. As células HL-60 foram sensíveis aos extratos *Galanthus woronowii*, *Galanthus shaoricus*, *Leucojum aestivum*, e *Galanthus platyphyllus* (Jokhadze et al., 2007).

Os extratos diclorometano e *n*-butanol obtidos a partir de bulbos frescos de *Hippeastrum vittatum*, bem como os alcalóides isolados do extrato diclorometano,

montanina e vitatina, foram avaliados quanto a sua atividade antiproliferativa *in vitro* contra cinco linhagens de células humanas: o adenocarcinoma de cólon (HT29), carcinoma de células não pequenas do pulmão (H460), carcinoma renal (RXF393), câncer de mama (MCF7) e câncer epitelial de ovário (OVCAR3). Ambos os extratos apresentaram atividade promissora contra todas as linhas de células. Entre os compostos isolados, a montanina (**48**) apresentou maior atividade antiproliferativa. Essa maior resposta poder estar relacionada a seu esqueleto químico diferenciado (**Figura 8**) (Silva *et al.*, 2008).

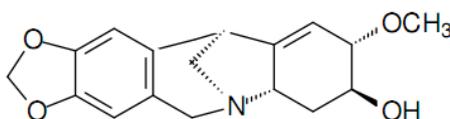


Figura 8. Estrutura química do alcalóide montanina (**48**).

Narcissus tazetta var. *chinensis* é uma planta herbácea pertencente à família Amaryllidaceae e possui substâncias ativas isoladas já conhecidas, entre elas estão a pseudolicorina, licorina e tazetina. Extratos dessa espécie foram testados contra as linhas celulares de leucemia (HL-60, K562, KT1/A3, e A3R). Para fins de comparação, os mesmos extratos foram avaliados quanto ao seu efeito citotóxico em células normais NHBE e NIH3T3. Os resultados apontaram uma maior citotoxicidade dos extratos contra as linhagens celulares de leucemia em relação às células normais. Além disso, a microscopia de fluorescência e os ensaios de citometria de fluxo mostraram que os extratos dessa espécie induzem a apoptose nas células HL-60. A fim de tentar compreender o mecanismo de ação desses extratos, foi medido a atividade catalítica das caspases 3, 8 e 9 contra as células HL-60 e a liberação do citocromo c da mitocôndria para o citosol indicando a iniciação da apoptose. A atividade das caspases aumentou significativamente e permaneceu elevada por 24h. Dessa forma, pode-se afirmar que tanto a via mitocondrial, quanto a via receptor de morte celular estão, ambos, envolvidos nas vias de apoptose induzida pelo extrato (Liu *et al.*, 2006).

Para aprofundar a análise do possível mecanismo de ação, ou seja, indução de apoptose mediada pelo extrato, foi testada a expressão dos genes *BCL-2* e *Bax* em células HL-60 após tratamento com diferentes concentrações do extrato da espécie *Narcissus*. A expressão de *Bax* aumentou acentuadamente de maneira

dose-dependente, já o nível do *BCL-2* diminuiu. Isso sugere que a indução de apoptose é uma das vias pela qual os alcalóides dessa série química exercem a atividade citotóxica (Liu *et al.*, 2006).

7. Discussão

Sabe-se que um dos grandes desafios na luta contra o câncer é a adaptação específica de células tumorais. A maioria dos quimioterápicos e a própria radioterapia induzem a morte de células tumorais, induzindo danos no DNA. Por serem genotóxicos, eles induzem também a morte de células normais, causando assim efeitos colaterais graves por afetar de modo não seletivo as células (Pandey *et al.*, 2005). As células normais que são afetadas pela toxicidade dessas drogas (agentes extrínsecos) podem sofrer mutações e tornarem-se também cancerígenas.

O aumento da incidência de vários tipos de cânceres associados com prognóstico pobre e resistência a morte programada por apoptose, como os gliomas, melanomas, cânceres de esôfago, câncer de células não pequenas do pulmão, entre outros, não foi acompanhada por melhores opções terapêuticas (Lamoral-Theys *et al.*, 2009). Em geral, os quimioterápicos existentes no mercado exercem sua atividade citotóxica ou antiproliferativa através da indução de apoptose ou inibição do ciclo celular. Portanto, a busca de novos agentes antiproliferativos que exibem sua atividade por um mecanismo de ação diferente é devidamente importante e grandes esforços estão sendo feitos para encontrá-los.

Como futuros protótipos de agentes antiproliferativos, figuram os alcalóides isolados de plantas da família Amaryllidaceae. Foram encontrados diversos relatos sobre a atividade citotóxica desses compostos de vasta atividade biológica. Os alcalóides dessa família exibem potente atividade contra células tumorais em concentrações micromolares e, o mais importante: a maioria deles é seletiva para células cancerosas, não exibindo ação significativa contra as células normais em que foram testados. Outra característica fundamental desses alcalóides é que eles demonstraram agir nas células malignas através de mecanismos de ação diferenciados, alcançando assim não somente as células de câncer sensíveis à apoptose, mas também as células resistentes à apoptose. Isso é uma alternativa promissora para o tratamento de cânceres com o prognóstico pobre.

Entre os alcalóides que exibiram importantes atividades citotóxicas contra células cancerígenas, destacam-se a pancratistatina e narciclasina do tipo isocarbostiril e a licorina. Os alcalóides pertencentes ao subgrupo crinina, pretazetina e montanina também são alvos de estudos, mas em escala menor.

A atividade citotóxica exibida por esses três alcalóides principais, pancratistatina, narciclasina e licorina, é semelhante, provavelmente devido a sua semelhança estrutural, embora alguns estudos apontem a licorina com melhor perfil antiproliferativo, pois ela é menos tóxica e, ainda, não inibe as isoenzimas do complexo citocromo P450 (Lamoral-Theys *et al.*, 2009). Uma outra vantagem da licorina frente aos dois alcalóides não básicos é sua maior biodisponibilidade natural, já que ela é o composto majoritário de várias espécies da família Amaryllidaceae e possui um bom rendimento extrativo.

Como eles não são encontrados em abundância na natureza, os alcalóides pancratistatina e narciclasina são alvos de diversos estudos que objetivam encontrar análogos naturais e sintéticos com igual eficácia antitumoral. Outra característica desses dois compostos é sua insolubilidade em água, o que dificulta a realização de ensaios pré-clínicos e clínicos, motivando assim a busca de pró-fármacos dessas duas substâncias que possibilitem atingir uma potente atividade antiproliferativa *in vivo*. Comparativamente, a licorina não apresenta esse problema, já que é solúvel em água e já demonstrou ser eficaz em alguns estudos *in vivo* já realizados.

Vários estudos analisando a relação estrutura-atividade desses compostos estão sendo realizados, objetivando encontrar um farmacóforo ideal para a atividade anticâncer. Os estudos baseiam-se, principalmente, em comparar as estruturas desses três alcalóides mais estudados com seus congêneres (análogos naturais e sintéticos) para verificar o aumento, diminuição ou perda da atividade, contra células cancerosas, mediante cada modificação química realizada. Até o momento, o delineamento de um farmacóforo ideal permanece em construção.

8. Conclusão

Através do que foi abordado nesse trabalho, podemos concluir que os alcalóides de Amaryllidaceae exibem atividade citotóxica significativa para célula tumoral, enquanto que para as células não tumorais parece ser insignificativo. Com isso, esses alcalóides bioativos fazem parte de um seleto grupo de protótipos promissores para futuros agentes antitumor. Isso reforça a esperança de encontrar novas drogas para melhorar a terapia do câncer já existente. Se uma droga for seletiva diminui os efeitos adversos, e isso aumenta a qualidade de vida do paciente. Muito tem a ser explorado, ainda, sobre a atividade antitumor desses alcalóides, mas os resultados relatados em estudos já são altamente encorajadores e atestam um alto potencial desta família de compostos fornecendo pistas importantes para a descoberta de novas drogas antitumorais.

9. Referências

AGUIRRE-GHISO, J. A. Models, mechanisms and clinical evidence for cancer dormancy. *Nature*, v. 7, p. 834-846, 2007.

APRAIZ, A., BOYANO, M. D., ASUMENDI, A. Cell-Centric View of Apoptosis and Apoptotic Cell Death-Inducing Antitumoral Strategies. *Cancers*, v. 3, p. 1042-1080, 2011.

ARRIGONI, O., ARRIGONI LISO, R., CALABRESE, G. Lycorine as an inhibitor of ascorbic acid biosynthesis. *Nature*, v. 256, p. 513 – 514, 1975.

BARTHELMES, H. U., NIEDERBERGER, E., ROTH, T., SCHULTE, K., TANG, W. C., BOEGE, F., FIEBIG, H. H., EISENBRAND, G., MARKO, D. Lycobetaine acts as a selective topoisomerase II beta poison and inhibits the growth of human tumour cells. *British Journal of Cancer*, v. 85, p. 1585-1591, 2001.

BASTIDA, J., LAVILLA, R., AND VILADOMAT, F. Chemical and Biological aspects of *Narcissus* alkaloids. In *The alkaloids: Chemistry and biology*, 2006, v. 63, p. 87 – 179, 2006.

BERKOV, S., ROMANI, S., HERRERA, M., VILADOMAT, F., CODINA, C., MOMEKOV, G., LONKOVA, I., BASTIDA, J. Antiproliferative Alkaloids from *Crinum zeylanicum*. *Phytotherapy Research*, 2011.

CAMPBELL, W., NAIR, J. J., GAMMON, D., W., CODINA, C., BASTIDA, J., VILADOMAT, F., SMITH, P. J., ALBRECHT, C. F. Bioactive alkaloids from *Brunsvigia radulosa*. *Phytochemistry*, v. 53, p. 587-591, 2000.

CAMPBELL, W. E., NAIR, J. J., GAMMON, D. W., BASTIDA, J., CODINA, C., VILADOMAT, F., SMITH, P. J., ALBRECHT, C. F., Cytotoxic and antimalarial alkaloids from *Brunsvigia littoralis*. *Planta Medica*, v. 64, p. 91-93, 1998.

CARMICHAEL, A. S., SAMI, A. S., DIXON, J. M. Breast cancer risk among the survivors of atomic bomb and patients exposed to therapeutic ionizing radiation. *European Journal of Surgical Oncology*, v. 29, p. 475-479, 2003.

CASTILHOS, T. S., GIORDANI, R. B., HENRIQUES, A. T., MENEZES, F. S., ZUANAZZI, J. A. S. Avaliação *in vitro* das atividades antiinflamatória, antioxidante e antimicrobiana do alcalóide montanina. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 77, p. 209-214, 2007.

CHABNER, B. A., LONGO, D. L. *Cancer chemotherapy and biotherapy: principles and practice*. 2. ed Philadelphia: Editora Lippincott-Raven. 1996. p. 824.

CHRÉTIEN, F., IBN AHMED, S., MASION, A., CHAPLEUR, Y. Enantiospecific synthesis and biological evaluation of seco analogues of antitumor amaryllidaceae alkaloids. *Tetrahedron*, v. 49, p. 7463-7478, 1993.

CITOGLU, G., TANKER, M., GUMUSEL, B. Antiinflammatory effects of lycorine and haemanthidine. *Phytotherapy Research*, v. 12, p. 205-206, 1998.

COLLINS, J., RINNER, U., MOSER, M., HUDLICKY, T., GHIVIRIGA, I., ROMERO, A. E., KORNIENKO, A., MA, D., GRIFFIN, C., PANDEY, S. Chemoenzymatic Synthesis of Amaryllidaceae Constituents and Biological Evaluation of their C-1 Analogues. The Next Generation Synthesis of 7-Deoxypancratistatin and trans-Dihydrolycoricidine. *The Journal of Organic Chemistry*, v.75, p. 3069-3084, 2010.

CORY, S., HUANG, D., ADAMS, J. The Bcl-2 family: roles in cell survival and oncogenesis. *Oncogene*, v. 22, p. 8590-8607, 2003.

DEL GIUDICE, L., MASSARDO, D.R., PONTIERI, P., WOLF, K. Interaction between yeast Mitochondrial and nuclear genomes: null alleles of RTG genes affect resistance To the alkaloid lycorine on cell division and cell elongation. *Gene*, v. 354, p. 9–14, 2005.

DIRSCH, V.M., ANTLSPERGER, D.S., HENTZE, H., VOLLMAR, A.M. Ajoene, an experimental anti-leukemic drug: mechanism of cell death. *Leukemia*, v. 16, p. 74-83, 2002.

DUMONT, P.; INGRASSIA, L.; ROUZEAU, S.; RIBAUOUR, F.; THOMAS, S.; ROLAND, I.; DARRO, F.; LEFRANC, F.; KISS, R. The Amaryllidaceae isocarbostryl narciclasine induces apoptosis by activation of the death receptor and/or mitochondrial pathways in cancer cells but not in normal fibroblasts. *Neoplasia*, v. 9, p. 766-776, 2007.

EICHHORM, J., TAKADA, T., KITA, Y., ZENK, M. H. Biosynthesis of the Amaryllidaceae alkaloid galanthamine. *Phytochemistry*, v. 49, p. 1037-1047, 1998.

EVIDENTE, A., ANDOLFI, A., ABOU-DONIA, A. H., TOUEMA, S. M., HAMMODA, H. M., SHAWKY, E., MOTTA, A. (-)-Amarbellisine, a lycorine-type alkaloid from *Amaryllis belladonna* L. growing in Egypt. *Phytochemistry*, v. 65, p. 2113-2118, 2004.

EVIDENTE, A., KIREEV, A. S., JENKINS, A. R., ROMERO, A. E., STEEL W. F. A., 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 Medica*, v. 75, p. 501-507, 2009.

FISCHER, U., JANICKE, R. U., SCHULZE-OSTHOFF, K. Many cuts to ruin: a comprehensive update of caspase substrates. *Cell Death & Differentiation*, v. 10, p. 76-100, 2003.

GABRIELSEN, B., MONATH, T., W. HUGGINS, J., KEFAUVER, D. Antiviral (RNA) activity of selected Amaryllidaceae Isoquinoline constituents and Synthesis of Related Substances. *Journal of Natural Products*, v. 55, p. 1569-1581, 1992.

GEISSMAN, T. A. *Organic chemistry of secondary plant metabolism*. San Francisco: Editora Freeman, Cooper. 1969. p. 592.

GHOSAL, S., SINGH, S. K., UNNIKRISHNAN, S. G. Effects of stress on Alkaloid metabolism in *Crinum asiaticum*. *Phytochemistry*, v. 29, p. 805-811, 1990.

GIORDANI, R. B., VIEIRA, P. B., WEIZENMANN, M., ROSEMBERG, D. B., SOUZA, A., BONORINO, C., DE CARLI, G. A., BOGO, M. R., ZUANAZZI, J. A. S., TASCA, T. Lycorine induces cell death in the amitochondriate parasite, *Trichomonas vaginalis*, via an alternative non-apoptotic death pathway. *Phytochemistry*, v. 72, p. 645-650, 2011.

GOIETSENOVEN, G. V. 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. *Journal of Natural Products*, v. 73, p. 1223-1227, 2010.

GRIFFIN, C., MCNULTY, J., PANDEY, S. Pancreatistatin induces apoptosis and autophagy in metastatic prostate cancer cells. *International Journal of Oncology*, v. 38, p. 1549-1456, 2011.

GRIFFIN, C., SHARDA, N., SOOD, D., NAIR, J., MCNULTY, J., PANDEY, S. Selective cytotoxicity of Pancreatistatin-related natural *Amaryllidaceae* alkaloids: evaluation of the activity of two new Compounds. *Cancer Cell International*, v. 7, p. 1-7, 2007.

GRIFFIN, C., KARNIK, A., MCNULTY, J., PANDEY, S. Pancreatistatin selectively targets cancer cell mitochondria and reduces growth of human colon tumor xenografts. *Molecular Cancer Therapeutics*, v. 10, p. 57-68, 2011.

GURIB-FAKIM, A. Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow – Review. *Molecular Aspects of Medicine*, v. 27, p. 1-93, 2006.

HANAHAN, D., WEINBERG, R.A. The Hallmarks of Cancer: Review. *Cell*, v. 100, p. 57-70, 2000.

HARVEY, A. L., Natural products in drug discovery. *Drug Discovery Today*, v.13, p. 894-901, 2008.

HEASMAN, S. J., RIDLEY, A. J. Mammalian Rho GTPases: new insights into their functions from in vivo studies. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, v. 9, p. 690-701, 2008.

HOFMANN JR, A. E., SEBEN, C., MONTANHA, J. A., DUTILH, J., SOBRAL, M., HENRIQUES, A. T., ZUANAZZI, J. A. S. Avaliação da atividade antiviral e determinação do perfil cromatográfico de *Hippeastrum glaucescens* (Martius) Herbert (Amaryllidaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 14, p. 7-14, 2004.

HOHMANN, J., FORGO, P., MOLNAR, J., WOLFARD, K., MOLNAR, A., THALHAMMER, T., MATHE, I., SHARPLES, D. Antiproliferative *Amaryllidaceae* alkaloids isolated from the bulbs of *Sprekelia formosissima* and *Hymenocallis x festalis*. *Planta Medica*, v. 68, p. 454-457, 2002.

HUDLICKY, T., RINNER, U., GONZALEZ, D., AKGUN, H., SCHILLING, S., MARTINOT, T.A., PETTIT, G.R. Total synthesis and biological evaluation of *Amaryllidaceae* alkaloids: Narciclasine, *ent*-7-deoxypancratistatin, 10b-*epi*-deoxypancratistatin, and truncated derivatives. *Journal of Organic Chemistry*, v. 67, p. 8726-8743, 2002.

IBN-AHMED, S., KHALDI, M., CHRÉTIEN, F., CHAPLEUR, Y. A short route to enantiomerically pure benzophenanthridone skeleton: synthesis of lactone analogues of narciclasine and lycoricidine. *Journal of Organic Chemistry*, v. 69, p. 6722-6731, 2004.

INGRASSIA, L., LEFRANC, F., MATHIEU, V. , DARRO, F., KISS, R. Amaryllidaceae Isocarbostyryl Alkaloids and Their Derivatives as Promising Antitumor Agentes. *Translational Oncology*. v. 1, p. 1-13, 2008.

INGRASSIA, L., LEFRANC, F., DEWELLE, J., POTTIER, L., MATHIEU, V., SPIEGL-KREINECKER, S., SAUVAGE, S., EL YAZIDI, M., DEHOUX, M., BERGER, W., VAN QUAQUEBEKE, E., KISS, R. Structure-Activity Relationship Analysis of Novel Derivatives of Narciclasine (an Amaryllidaceae Isocarbostryril Derivative) as Potential Anticancer Agents. *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 52, p. 1100-1114, 2009.

JANG, S. J., GARDNER, J. M., RO, J. Y. Diagnostic approach and prognostic factors of cancers. *Advances in anatomic pathology*, v. 18, p. 1533-4031, 2011.

JIMENEZ, A., SANTOS, A., ALONSO, G., VAZQUEZ, D. Inhibitors of protein synthesis in eukaryotic cells. Comparative effects of some Amaryllidaceae alkaloids. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 425, p. 342-348, 1976.

JITSUNO, M., YOKOSUKA, A., SAKAGAMI, H., MIMAKI, Y. Chemical Constituents of the Bulbs of *Habranthus brachyandrus* and Their Cytotoxic Activities. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, v. 57, p. 1153-1157, 2009.

JOKHADZE, M., ERISTAVI, L., KUTCHUKHIDZE, J., CHARIOT, A., ANGENOT, L., TITS, M., JANSEN, O., FRÉDÉRICH, M. *In Vitro* Cytotoxicity of some Medicinal Plants from Georgian Amaryllidaceae. *Phytotherapy Research*, v. 29, p. 622–624, 2007.

KARADENIZ, H., GULMEZ, B., SAHINCI, F., ERDEM, A., KAYA, G. I., UNVER, N., KIVCAK, B., OZSOZ, M. Disposable electrochemical biosensor for the detection of the interaction between DNA and lycorine based on guanine and adenine signals. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 33, p. 295-302, 2003.

KIREEV, A. S., NADEIN, O. N., AGUSTIN, V. J., BUSH, N. E., EVIDENTE, A., MANPADI, M., OGASAWARA, M. A., RASTOGI, S. K., ROGELI, S., SHORS, S. T., KORNIENKO, A. Synthesis and Biological Evaluation of Aromatic Analogues of Conduritol F, L-*chiro*-Inositol, and Dihydroconduritol F Structurally Related to the Amaryllidaceae Anticancer Constituents. *The Journal of Organic Chemistry*, v. 71, p. 5694-5707, 2006.

KLUCH, R. M., WETZEL, E. B., GREEN, D. R., NEWMAYER, D. D. The release of cytochrome c from mitochondria: a primary site for Bcl-2 regulation of apoptosis. *Science*, v. 275, p. 1132-1136, 1997.

KOJIMA, K., MUTSUGA, M., INOUE, M., OGIHARA, Y. Two Alkaloids From *Zephyranthes Carinata*. *Phytochemistry*, v. 48, p. 1199-1202, 1998.

KORNIENKO, A., EVIDENTE, A. Anticancer evaluation of structurally diverse Amaryllidaceae alkaloids and their synthetic derivatives. *Phytochemistry Reviews*, v. 8, p. 449-459, 2009.

KORNIENKO, A., EVIDENTE, A. Chemistry, Biology, and Medicinal Potential of Narciclasine and its Congeners. *Chemical Reviews*, v. 108, p. 1982-2014, 2008.

KUKHANOVA, M., VICTOROVA, L., KRAYEVSKY, A. Peptidyltransferase center of ribosomes: On the mechanism of action of alkaloid lycorine. *Febbs Letters*, v. 160, p. 129-133, 1983.

LAMORAL-THEYS, D., 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 antitumor activity in cancer cells that display resistance to proapoptotic stimuli: an investigation of structure-activity relationship and mechanistic insight. *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 52, p. 6244-6256, 2009.

LEFRANC, F.; SAUVAGE, S.; VAN GOIETSENOVEN, G.; MEGALIZZI, 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. *Molecular Cancer Therapeutics*, v. 8, p. 1739-1750, 2009.

LEWIN, B. *Genes VII*. 7. ed Porto Alegre: Editora Artmed, 2001. p. 799-867.

LI, Y., LIU, J., TANG, L. J., SHI, Y. W., HU, W. X. Treatment of lycorine on SCID mice model with human APL cells. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 61, p. 229-234, 2007.

LI, Y.; LIU, J.; TANG, L. J.; ZHANG, G. P.; REN, W.; HU, W. X. Apoptosis induced by Lycorine in KM3 cells is associated with the G0/G1 cell cycle arrest. *Oncology Reports*, v. 17, p. 377-384, 2007.

LIKHITWITAYAWUID, K., ANGERHOFER, C. K., CHAI, H., PEZZUTO, J. M., CORDELL, G. A., RUANGRUNGSI, N. Cytotoxic and antimalarial alkaloids from the bulbs of *Crinum amabile*. *Journal of Natural Products*, v. 56, p. 1331-1338, 1993.

LIU, J., HU, W. X., HE, L. F., YE, M., LI, Y. Effects of lycorine on HL-60 cells via arresting cell cycle and inducing apoptosis. *FEBS Letters*, v.578, p. 245-250, 2004.

LIU, J., LI, Y., REN, W., HU, W. Apoptosis of HL-60 cells induced by extracts from *Narcissus tazetta* var. *chinensis*. *Cancer Letters*, v. 242, p. 133-140, 2006.

LIU, X., JIANG, J., JIAO, X., WU., Y., LIN, J., CAI, Y. Lycorine induces apoptosis and down-regulation of Mcl-1 in human leukemia cells. *Cancer Letters*, v. 274, p. 16-24, 2009.

LOPEZ, S., BASTIDA, J., VILADOMAT ,F. ,CODINA, C. .Acetylcholinesterase inhibitory Activity of some Amaryllidaceae alkaloids and *Narcissus* extracts. *Life Sciences* v. 71, p. 2521–2529, 2002.

MATVEENKO, M., BANWELL, M. G., JOFFE, M., WAN, S., FANTINO, E. Biological Evaluation of ent-Narciclasine, ent-Lycoricidine, and Certain Enantiomerically-Related Congeners. *Chemistry & Biodiversity*, v. 6, p. 685-691, 2009.

MCLACHLAN, A., KEKRE, N., MCNULTY, J., PANDEY, S. Pancratistatin: a natural anti-cancer compound that targets mitochondria specifically in cancer cells to induce apoptosis. *Apoptosis*, v. 10, p. 619-630, 2005.

MCNULTY, J., MAO J., GIBE, R., MO, R., WOLF, S., PETTIT, G. R., HERALD, D. L., BOYD, M. R. Studies directed towards the refinement of the Pancratistatin cytotoxic pharmacophore. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, v. 11, p. 169-172, 2001.

MCNULTY, J., NAIR, J. J., CODINA, C., BASTIDA, J., PANDEY, S., GERASIMOFF, J., GRIFFIN, C. Selective apoptosis-inducing activity of crinum-type Amaryllidaceae alkaloids. *Phytochemistry*, v. 68, p. 1068-1074, 2007.

MCNULTY, J., NAIR, J. J., BASTIDA, J., PANDEY, S., GRIFFIN, C. Structure-activity studies on the lycorine pharmacophore: A potent inducer of apoptosis in human leukemia cells. *Phytochemistry*, v. 70, p. 913-919, 2009.

MCNULTY, J., NAIR, J., LITTLE J. R. L., BRENNAN, J., BASTIDA, J. Structure-activity studies on acetylcholinesterase inhibition in the lycorine Series of Amaryllidaceae alkaloids. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, v. 20, p. 5290-5294, 2010.

MCNULTY, J., THORAT, A., VURGUN, N., NAIR, J. J., MAKAJI, E., CRANKSHAW, D. J., HOLLOWAY, A. C. Human Cytochrome P450 Liability Studies of *trans*-Dihydrornarciclasine: A Readily Available, Potent, and Selective Cancer Cell Growth Inhibitor. *Journal of Natural Products*, v. 74, p. 106-108, 2011.

MIKAMI, M., KITAHARA, M., KITANO, M., ARIKI, Y., MIMAKI, Y., SASHIDA, Y., YAMAZAKI, M., YUI, S. Suppressive activity of lycoricidinol (narciclasine) against cytotoxicity of neutrophil-derived calprotectin, and its suppressive effect on rat adjuvant arthritis model. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, v. 22, p. 674-678, 1999.

MURAD, A. M. e KATZ, A., *Oncologia: bases clínicas do tratamento*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, , 1996. p. 436.

MUTSUGA, M., KOJIMA, K., YAMASHITA, M., OHNO, T., OGIHARA, Y., INOUE, M. Inhibition of Cell Cycle Progression through Specific Phase by Pancratistatin Derivatives. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, v. 25, p. 223-228, 2002.

NAGATA, S., NAGASE, H., KAWANE, K., MUKAE, N., FUKUYAMA, H. Degradation of chromosomal DNA during apoptosis. *Cell Death & Differentiation*, v.10, p.108-116, 2003.

OLIVEIRA, R. B. Agentes antineoplásicos biorredutíveis: uma nova alternativa para tratamento de tumores sólidos. *Química Nova*, v. 25, p. 976-984, 2002.

PANDEY, S., KEKRE, N., NADERI, J., MCNULTY, J., Induction of Apoptotic Cell Death Specifically in Rat and Human Cancer Cells by Pancratistatin. *Artificial Cells, Blood Substitutes and Immobilization Biotechnology*, v. 33, p. 279-295, 2005.

PARK, B. C., BOSIRE, K. O., LEE, E. S., LEE, Y. S., KIM, J. A. Asiatic acid induces apoptosis in SK-MEL-2 human melanoma cells. *Cancer Letters*, v. 218, p. 81-90, 2005.

PEREZ-LOSADA, J., CASTELLANOS-MARTIN, A., MAO, J. Cancer evolution and individual susceptibility. *Integrative Biology*, v. 3, p. 313-328, 2011.

PETTIT, G. R., GADDAMIDI, V., GOSWAMI, A., & CRAGG, G. M. Antineoplastic agents 99. *Amaryllis belladonna*. *Journal of Natural Products*, v. 47, p. 796-801, 1984.

PETTIT, G. R., EASTHAM, S. A., MELODY, N., ORR, B., HERALD, D. L., MCGREGOR, J., KNIGHT, C., DOUBEK, D.L., PETTIT, G.R. 3RD, GARNER, L. C., BELL, J. A. Isolation and structural modification of 7-deoxynarciclasine and 7-deoxy-trans-dihydronarciclasine. *Journal of Natural Products*, v. 69, p. 7-13, 2006.

PETTIT, G. R., MELODY, N., HERALD, D. L. Antineoplastic Agents. 511. Direct Phosphorylation Of Phenpanstatin And Pancratistatin. *Journal of Natural Products*, v. 67, p. 322-327, 2004.

PETTIT, G. R., PETTIT G. R. 3RD, BACKHAUS, R. A., BOYD, M. R., MEEROW, A.W. Antineoplastic Agents 256. Cell Growth Inhibitory Isocarbostryls from *Hymenocallis*. *Journal of Natural Products*, v. 56, p. 1682-1687, 1993.

RINNER, U., SIENGALEWICZ, P., HUDLICKY, T. Total Synthesis of epi-7-Deoxypancratistatin via Aza-Payne Rearrangement and Intramolecular Cyclization. *Organic Letters*, v. 4, p. 115-117, 2002.

SHNYDER, S., COOPER, P. A., MILLINGTON, N. J., GILL, J. H., BIBBY, M. C. Sodium Pancratistatin 3,4-O-Cyclic Phosphate, a Water-Soluble Synthetic Derivative of Pancratistatin, Is Highly Effective in a Human Colon Tumor Model. *Journal of Natural Products*, v. 71, p. 321-324, 2008.

SILVA, A. F. S., ANDRADE, J. P., MACHADO, K. R. B., ROCHA, A. B., APEL, M. A., SOBRAL, M. E. G., HENRIQUES, A. T., ZUANAZZI, J. A. S. Screening for cytotoxic activity of extracts and isolated alkaloids from bulbs of *Hippeastrum vittatum*. *Phytomedicine*, v. 15, p. 882-885, 2008.

SIMPSON, C. D., ANYIWE, K., SCHIMMER, A. D. Anoikis resistance and tumor metastasis. *Cancer Letters*, v. 272, p. 177-185, 2008.

SZLAVIK, L., GYURIS, A., MINAROVITS, J., FORGO, P., MOLNAR, J., HOHMANN, J. Alkaloids from *Leucojum vernum* and antiretroviral activity of Amaryllidaceae alkaloids. *Planta Medica*, v. 70, p. 871-873, 2004.

THOMPSON, C. B. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science* v. 267, p.1456–1462, 1995.

TRAM, N. T. M., TITORENKOVA, T. V., BANKOVA, V. S., HANDJIEVA, N. V., POPOV, S. S. *Crinum* L. (Amaryllidaceae): a Review. *Fitoterapia*, v. 73, p. 183-208, 2002.

UNVER, N. New skeletons and new concepts in Amaryllidaceae alkaloids. *Phytochemistry Reviews*, v.6, p. 125-135, 2007.

VRIJSEN, R., VANDEN BERGHE, D. A., VLIETINCK, A. J., BOEYÉ, A. Lycorine: a eukaryotic termination inhibitor? *Journal of Biological Chemistry*, v. 261, p. 505-507, 1986.

WENIGER, B., ITALIANO, L., BECK, J.-P., BASTIDA, J., BERGOFION, S., CODINA, C., LOBSTEIN, A., ANTON, R. Cytotoxic Activity of Amaryllidaceae Alkaloids. *Planta medica*, v. 61, p. 77-79, 1995.

YUI, S., MIKAMI, M., KITAHARA, M., YAMAZAKI, M. The inhibitory effect of lycorine on tumour cell apoptosis induced by polymorphonuclear leukocyte-derived calprotectin. *Immunopharmacology*, v. 40, p. 151-162, 1998.

ZEE-CHENG, R.K.-Y., YAN, S.-J., CHENG, C. C. Antileukemic activity of ungeremine and related compounds. Preparation of analogues of ungeremine by a practical photochemical reaction. *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 21, p. 199-203, 1978.

ZHONG, J.. Amaryllidaceae and Sceletium alkaloids. *Natural Product Reports*, v. 24, p. 886-905, 2008.

ZHOU, B. B., ELLEDGE, S. J. The DNA damage response: putting checkpoints in perspective. *Nature*, v. 23, p. 433-439, 2000.

ZOU, G., PUIG-BASAGOITI, F., ZHANG, B., QING, M., CHEN, L., PANKIEWICZ, K. W., FELCZAK, K., YUAN, Z., SHI, P. A single-amino acid substitution in West Nile virus 2K peptide between NS4A and NS4B confers resistance to lycorine, a flavivirus inhibitor. *Virology*, v. 384, p. 242–252, 2009.

ZUPKO, I., RETHY, B., HOHMAN, J., MOLNAR, J., OCSOVSZKI, I., FALKAY, G. Antitumor Activity of Alkaloids Derived from *Amaryllidaceae* Species. *In vivo*, v. 23, p. 41-48, 2009.