

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS, ALIMENTOS E NUTRIÇÃO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA

DENIR MARCELINO DE PAULA JUNIOR

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTITUMORAL *IN VITRO* DE
EXTRATOS DE *Crinum scabrum* E DO ALCALOIDE
CRINAMINA EM LINHAGENS LEUCEMICAS E MELANOMA**

Campo Grande
2024

DENIR MARCELINO DE PAULA JUNIOR

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTITUMORAL *IN VITRO* DE
EXTRATOS DE *Crinum scabrum* E DO ALCALOIDE
CRINAMINA EM LINHAGENS LEUCEMICAS E MELANOMA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Curso de graduação em Farmácia da
Faculdade de Ciências Farmacêuticas,
Alimentos e Nutrição/FACFAN da Universidade
Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito
para a obtenção do título de Bacharel em
Farmácia

Orientadora: Profa. Dra. Thalita Bachelli Riul

Campo Grande

2024

RESUMO

O câncer é um dos principais problemas relacionados a saúde na atualidade, sendo uma das principais causas de morte no mundo, com uma crescente incidência. Diante desse cenário, a comunidade científica tem se esforçado para buscar alternativas que amenizem a problemática, como a busca de novas possibilidades terapêuticas, tratamentos e compostos ativos. Dentro dessa busca, as plantas têm sido uma alternativa promissora, pela grande variedade de substâncias ativas. A família Amaryllidaceae é alvo de estudos devido a presença de diversos alcaloides com atividade biológica, onde em algumas espécies foram observados potencial efeito antitumoral. Embora haja alguns estudos na família, ainda existem espécies não estudadas, como a *Crinum scabrum*. Desse modo, este trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antitumoral *in vitro* da espécie. Para isso, foram testados em ensaio de viabilidade celular com o corante resazurina, o extrato bruto, extrato metanólico e fração acetato de etila, assim como o alcaloide isolado crinamina em linhagens celulares K562 (leucemia mieloide crônica), KG1 (leucemia mieloide aguda), e B16F10 (melanoma). As linhagens foram adicionadas em placas de 96 poços, na densidade 1×10^4 , seguido pela adição dos extratos e alcaloide e incubadas por 48 horas a 37°C e 5% de CO₂. A leitura foi realizada em espectrofotômetro nos comprimentos de onda de 570 e 600nm. Foi usado como controle não tumoral as células da linhagem NIH/3T3 (fibroblastos de camundongos), o fármaco antineoplásico doxorrubicina como controle de morte (CM) e a célula em meio de cultura como o controle de vida (CV). Para melhor interpretação dos resultados, foi calculada a concentração inibitória e citotóxica para 50% das células (CI₅₀ e CC₅₀) por meio de regressão não linear com auxílio do programa GraphPad Prism 5.0. O índice de seletividade foi calculado pela razão de CC₅₀ por CI₅₀. Dentre os compostos testados, o extrato metanólico e a crinamina apresentaram os melhores resultados, reduzindo a viabilidade celular das linhagens KG1 e K562, com alto índice de seletividade (177,94 e >23,25 para o extrato; e 287,35 e 79,43 para a crinamina) e baixa ação citotóxica em linhagem de fibroblasto de camundongo (NIH/3T3) (CC₅₀ >1000 µg/ml e >1000 µM, respectivamente para o extrato e crinamina), se mostrando promissores para mais estudos como alternativas terapêuticas. Ademais, estudos sobre a caracterização fitoquímica mais detalhada da espécie, assim como a identificação das substâncias que podem estar associadas a atividade antitumoral observada, os alvos moleculares envolvidos e o provável mecanismo de ação, também devem ser avaliados em trabalhos futuros.

Palavras-chave: neoplasias; alcaloides; plantas; sobrevivência celular.

ABSTRACT

Cancer is one of the most important health problems today, being one of the main causes of death in the world, with an increasing incidence. Faced with this scenario, the scientific community has made efforts to seek alternatives that alleviate the problem, such as the search for new therapeutic possibilities, treatments and active compounds. Within this search, plants have been a promising alternative, due to the wide variety of active substances. The family Amaryllidaceae has been the target of studies due to the presence of several alkaloids with biological activity, where potential antitumor effects have been observed in some species. Although there are some studies on the family, there are still unstudied species, such as *Crinum scabrum*. The aim of this study was to evaluate the antitumor activity of the species *in vitro*. To this end, the crude extract, methanolic extract and ethyl acetate fraction, as well as the isolated alkaloid crinamine, were tested in a cell viability assay with dye resazurin on cell lines K562 (chronic myeloid leukemia), KG1 (acute myeloid leukemia) and B16F10 (melanoma). The strains were added to 96-well plates at a density of 1×10^4 , followed by the addition of the extracts and alkaloid and incubated for 48 hours at 37°C and 5% CO₂. Readings were taken on a spectrophotometer at wavelengths of 570 and 600nm. Cells of the NIH/3T3 lineage (mouse fibroblasts) were used as the non-tumor control, the antineoplastic drug doxorubicin was used as a death control (CM), and cells in culture medium were used as a life control (CV). To better interpret the results, the inhibitory and cytotoxic concentrations for 50% of the cells (CI₅₀ and CC₅₀) were calculated using non-linear regression with the aid of the GrandPad Prism 5.0 program. The selectivity index was calculated as the ratio of CC₅₀ to CI₅₀. Among the compounds tested, the methanolic extract and crinamine showed the best results, reducing the cell viability of the KG1 and K562 lines with a high selectivity index (177,94 and >23,25 for the extract; and 287,35 and 79,43 for crinamine) and low cytotoxic action in the mouse fibroblast line (NIH/3T3) (CC₅₀ >1000 µg/ml and >1000µM, respectively for the extract and crinamine), showing promise for further studies as therapeutic alternatives. In addition, studies on the more detailed phytochemical characterization of the species, as well as the identification of substances that may be associated with the antitumor activity observed, the molecular targets involved and the probable mechanism of action, should also be evaluated in future work.

Keywords: neoplasms; alkaloids; plants; cell survival.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	5
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	6
2.1 CARCINOGENESE.....	6
2.2 LEUCEMIA.....	7
2.3 MELANOMA.....	7
2.4 Amaryllidaceae.....	8
2.5 <i>Crinum scabrum</i>	9
3.JUSTIFICATIVA.....	9
4. OBJETIVOS.....	10
4.1 OBJETIVO GERAL.....	10
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	10
5. METODOLOGIA.....	10
5.1 EXTRATOS E ALCALOIDE ISOLADO.....	11
5.2 ATIVIDADE ANTITUMORAL.....	11
5.3 CITOTOXICIDADE.....	12
5.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	12
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	12
6.1 ATIVIDADE DOS EXTRATOS.....	12
6.2 ATIVIDADE DA CRINAMINA.....	15
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	17
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	19

1 INTRODUÇÃO

O câncer é o nome dado a um conjunto de mais de 100 doenças, que apresentam como característica comum o crescimento desordenado de células e a capacidade de invadir tecidos. Existem diferentes fatores relacionados ao desenvolvimento do câncer, estes são divididos em causas externas e internas. As causas externas são as relacionadas ao meio ambiente, como o tabagismo, alcoolismo, radiação ultravioleta, infecções, alimentação não saudável, inatividade física e obesidade, estes compreendem cerca de 80% a 90% dos casos, enquanto as causas internas são as relacionadas a condições genéticas, imunológicas e hormonais (INCA, 2020).

Nos últimos anos, tem ocorrido um aumento considerável nos casos de câncer: Segundo a Organização Mundial de Saúde, 1 a cada 5 pessoas desenvolverá câncer durante algum momento na vida, e 1 a cada 9 homens ou 1 a cada 12 mulheres morrem devido a doença. No ano de 2022 foram registrados aproximadamente 20 milhões de casos novos e 9,7 milhões de mortes pela doença. A previsão é que em 2050, sejam registrados 35 milhões de novos casos, o que representa um aumento de cerca de 77% (OMS, 2024).

No Brasil, a incidência prevista para o triênio 2023-2025, é de 704 mil novos casos por ano. Destes os mais incidentes são os cânceres de pele não melanoma (31,3%), mama (10,5%), próstata (10,2%), cólon e reto (6,5%), pulmão (4,6%) e estômago (3,1%). As leucemias ocupam a 11^a posição, com estimativa de 11.540 casos novos por ano, sendo o 6º mais frequente nas regiões norte e nordeste. O câncer de pele melanoma é o 16º, apresentando estimativa de 8.980 casos novos (INCA, 2022a).

Diante dessa epidemiologia, cientistas e pesquisadores tem se dedicado a estudos buscando alternativas para a prevenção e novos tratamentos para o câncer (LIM et al., 2019). Dos medicamentos usados atualmente na oncologia, aproximadamente metade provém de fontes naturais (NEWMAN; CRAGG, 2020). Dessa forma, fica evidente a importância do estudo de plantas para o desenvolvimento de novos medicamentos oncológicos.

A família Amaryllidaceae vem sendo utilizada há milhares de anos (TALLINI et al., 2024a), com uso recomendado na antiguidade por Hipócrates de Kos (pai da medicina) para o tratamento de tumores (VAN GOIETSENOVEN et al., 2013). Essa família apresenta cerca de 80 gêneros e 1.600 espécies (SCOBEEVA et al., 2021), distribuídas mundialmente, com maior prevalência em locais como Brasil, Argentina, México, Sudão e Senegal (PAIVA et al., 2023). Existem diversas atividades biológicas já descritas, como propriedades antifúngicas, antibacterianas, antivirais, antimaláricas, anti-inflamatórias e antitumorais, além da inibição da acetilcolinesterase e butirilcolinesterase (GASCA et al.,

2020; HAVELEK et al., 2017; TALLINI et al., 2021).

Na espécie *Crinum scabrum*, foram identificados por meio de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas a presença de 21 alcaloides isoquinolínicos. Destes a crinamina foi o alcaloide considerado mais abundante (VIGAMONTE, 2021). Embora diversas plantas da família Amaryllidaceae tenham sido estudadas, não foram encontrados estudos sobre a atividade antitumoral da espécie *Crinum scabrum*, assim como a atividade do alcaloide crinamina em linhagens de células tumorais K562 (leucemia mieloide crônica), KG1 (leucemia mieloide aguda) e B16F10 (melanoma). Desse modo, o presente estudo teve como propósito avaliar a atividade antitumoral da espécie e do alcaloide isolado, nas linhagens mencionadas, buscando assim um avanço em novas estratégias do tratamento oncológico.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

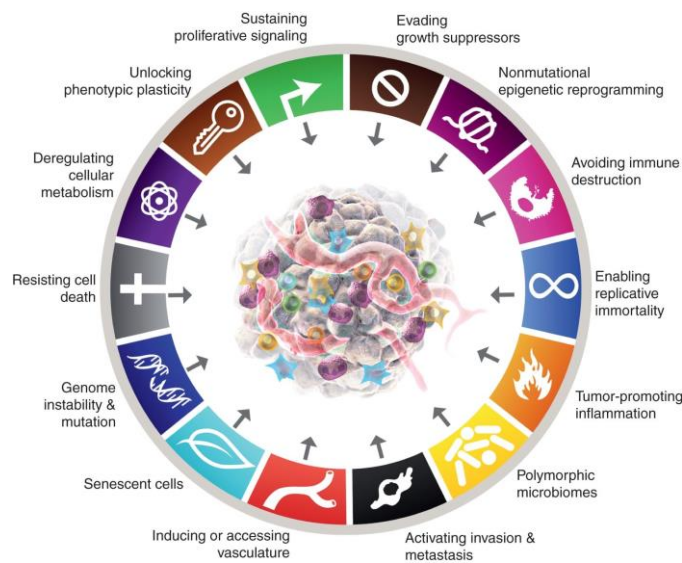
2.1 CARCINOGENESE

A proliferação desordenada de células, principal característica do câncer, surge como consequência de mutações genéticas (causada por diversos fatores, como exposição a agentes carcinogênicos). É um processo que pode demorar anos e ser resultado de um efeito cumulativo. Para que a célula perca o controle de uma proliferação “normal”, e passe para uma proliferação exacerbada, ocorrem mutações nos chamados proto-oncogenes (inativos em células normais) ou nos genes supressores de tumor. Os proto-oncogenes são genes relacionados ao estímulo mitogênico, enquanto os genes supressores de tumor apresentam o efeito oposto, são responsáveis por inibir a proliferação celular (INCA, 2020; WEINBERG, 2014).

Uma célula normal responde a sinais extracelulares para proliferar. No câncer, quando ocorre uma mutação em um proto-oncogene, esses genes são ativados e transformam-se em oncogenes, que independentemente de um estímulo externo induz a proliferação contínua. Já uma mutação nos genes supressores de tumor, gera a inabilidade de inibir essa proliferação celular. Ambos resultam em uma proliferação celular desordenada (INCA, 2020; WEINBERG, 2014).

Durante a carcinogênese, a célula passa a desenvolver uma série de características especiais, que contribuem para o crescimento e a proliferação do tumor. Essas características, são conhecidas como “*Hallmarks* do câncer” (Hallmarks = marcas registradas ou marcadores, em inglês). Alguns exemplos são a resistência a morte celular, sinalização proliferativa sustentada, escape imunológico, imortalidade replicativa, instabilidade e mutação do genoma (Figura 1).

Figura 1 - Hallmarks do câncer.



Fonte: (HANAHAHAN, 2022).

2.2 LEUCEMIA

A leucemia é um tipo de câncer que ocorre quando uma célula sanguínea imatura na medula óssea sofre uma mutação genética, transformando-se em uma célula cancerosa. Essa célula é capaz de se multiplicar rapidamente, de modo que as células saudáveis da medula passam a ser substituídas por essas células anormais (INCA, 2022b). Comumente esse processo tem origem desconhecida, porém alguns fatores podem estar relacionados, como tabagismo, fatores genéticos e hereditários, exposição a agentes cancerígenos, infecções por EBV e HTLV, além de tratamento prévio com radioterapia ou quimioterapia (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2024a; INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER, 2024). Já foram classificados mais de 12 tipos de leucemias, a principal classificação é feita de acordo com o tipo celular acometido: mieloide ou linfóide; e pela característica de crescimento: aguda (rápido) e crônica (lento). Dessa forma, os principais tipos de leucemia são: leucemia mieloide aguda (LMA), leucemia mieloide crônica (LMC), leucemia linfóide aguda (LLA) e leucemia linfóide crônica (LLC) (ABRALE, 2022; INCA, 2022b).

Alternativas atuais de tratamento das leucemias englobam: quimioterapias, tratamento alvo específico (como o uso de inibidores da tirosina quinase na LMC), imunológicos, medicamentos orais e o transplante de medula óssea quando necessário (INCA, 2022b).

2.3 MELANOMA

O melanoma é um tipo de câncer de pele, que tem origem nos melanócitos, ou seja, acontece quando estas células passam a proliferar de forma descontrolada. É

considerado dentre os cânceres de pele, o mais agressivo, devido a alta possibilidade de metástase. As alterações e mutações genéticas estão relacionadas ao desenvolvimento do melanoma, seja por alterações nos genes supressores de tumor, nos proto-oncogenes ou nos genes de reparo do DNA. Existem diversos fatores de risco associados ao melanoma, como: exposição a luz ultravioleta, presença de muitas pintas, pele mais clara, história familiar e pessoal, idade avançada e sistema imunológico suprimido (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2024b; INCA, 2022c).

O tratamento de câncer melanoma em estágios iniciais é cirúrgico. Em casos mais avançados, podem ser utilizados terapias alvo, radioterapia, imunoterapia e quimioterapia (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2024b; INCA, 2022c).

2.4 Amaryllidaceae

A família Amaryllidaceae apresenta uma série de plantas que vem sendo estudadas, principalmente devido a presença de alcaloides com atividades biológicas (MARTINS DE PAIVA et al., 2024). Dentre esses alcaloides, podem ser destacados a licorina, galantamina, homolicorina, narciclasina, crinina e hemantamina (BASTIDA; LAVILLA; VILADOMAT, 2006; MATHIEU et al., 2022; PAIVA et al., 2023).

A galantamina é o alcaloide mais conhecido, devido ao seu uso regulamentado para a doença de Alzheimer, atuando como inibidor da acetilcolinesterase (PAIVA et al., 2023). Outros efeitos dos alcaloides dessa família já foram observados, como potencial no tratamento de ansiedade e depressão, doença de chagas, ação anti-helmíntica, no combate a larvas de *Aedes aegypti* e como composto neuroprotetor (AZIZ et al., 2014; MARTINEZ-PEINADO et al., 2022; NASIR et al., 2022; NEERGAARD et al., 2009; OMORUYI et al., 2021).

Muitos desses alcaloides como a crinina, licorina, narciprimina, montanina e galantamina também tem se demonstrado promissores na busca de novas alternativas na oncologia (MARTINS DE PAIVA et al., 2024; MATHIEU et al., 2022; TALLINI et al., 2024a). Um ponto a ser destacado além da atividade biológica direta, é a possibilidade da combinação com terapias oncológicas já existentes, que pode promover um aumento do efeito citotóxico na célula tumoral, e gerar sensibilização celular, logo uma alternativa a quimiorresistência (DASARI et al., 2022; LI et al., 2022; MARTINS DE PAIVA et al., 2024; NAIR; VAN STADEN, 2018; WANG et al., 2023; ZHANG et al., 2021). Porém estudos também apontaram mecanismos de resistência induzidos pela combinação desses compostos com alguns fármacos, sendo esse então um ponto a ser analisado com mais cautela (CAO et al., 2013; MARTINS DE PAIVA et al., 2024).

Embora diversos efeitos positivos possam ser percebidos, efeitos tóxicos também têm sido observados, como dor abdominal, diarreia, náusea, alterações respiratórias,

cardiovasculares e neurológicas, além de uma possível toxicidade hepática e renal em algumas condições. Sendo assim necessários mais estudos para estabelecer o uso seguro de tais compostos (PAIVA et al., 2023).

2.5 *Crinum scabrum*

No gênero *Crinum*, pertencente à família Amaryllidaceae, algumas espécies também vêm sendo estudadas, e já foram relatados diversos efeitos, como anti-helmintico, neuroprotetor, inibidor da acetilcolinesterase e antitumoral por induzir apoptose e parada do ciclo celular além de ação antiproliferativa (AZIZ et al., 2014; CORTES et al., 2015; “Tropicos”, 2024; HABLI et al., 2017; LIM et al., 2019; LIU et al., 2004, 2009; MARTINS DE PAIVA et al., 2024). A família também é reconhecida pela presença de flavonoides, compostos fenólicos e glicosídeos, mas o destaque ainda está na atividade dos alcaloides (LÓPEZ et al., 2002; VIGAMONTE, 2021). Todavia, ainda é escasso na literatura dados sobre uma caracterização fitoquímica completa da espécie, porém alguns alcaloides já foram relatados, como a licorina, crinamina e 6-hidroxicrinamina (REICHERT, 1938; JEFFS et al., 1985). Em um estudo mais recente, foram identificados 21 alcaloides através de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas, desta identificação a crinamina foi considerada a mais abundante (VIGAMONTE, 2021).

A crinamina isolada de *Crinum asiaticum*, uma espécie diferente do gênero *Crinum*, se mostrou ativa em células de câncer cervical, com indução de apoptose independente de danos ao DNA, supressão da angiogênese, inibição do crescimento e redução da migração celular, onde foi sugerida a possibilidade do seu uso para a quimioprevenção ou composto alternativo para o tratamento do câncer cervical (KHUMKHRONG et al., 2019). Estudos sobre a ação da espécie *Crinum scabrum* e do alcaloide crinamina em linhagens tumorais como K562, KG1 e B16F10 ainda são escassos, de modo que não foram encontrados na literatura.

3 JUSTIFICATIVA

O câncer é uma das principais causas de morte no mundo, ocupando na maioria dos países a primeira ou segunda posição. Nos últimos anos, tem sido observado um aumento na incidência e mortalidade pela doença, sendo classificada como o principal problema de saúde pública mundial (INCA, 2022a; SUNG et al., 2021).

Segundo os dados do Observatório Global do Câncer da Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC), em 2022, ocorreram 487 mil casos novos de leucemia, com 305 mil mortes. Para o melanoma, foram 331 mil casos novos, com 58 mil mortes (GLOBOCAN, 2022). Diante desse cenário, é possível perceber, que mesmo com os

tratamentos atuais, as leucemias e o melanoma ainda representam um alto número de mortes, fazendo-se necessário a busca por novas alternativas que amenizem a problemática.

As plantas da família Amaryllidaceae apresentam grupos exclusivos de alcaloides, com mais de 650 isolados até o momento (BASTIDA; LAVILLA; VILADOMAT, 2006; BERKOV et al., 2020). Essas plantas são destaques para farmacologistas no mundo, com importância na descoberta de novos medicamentos (PAIVA et al., 2023). Diversos estudos de citotoxicidade com essa família tem sido realizados devido ao seu potencial de combater células tumorais, com efeitos já demonstrados em algumas linhagens celulares, com ação citotóxica seletiva, proteção contra o estresse oxidativo, efeito antiproliferativo e indução da apoptose, além da atividade anti-inflamatória que pode influenciar o microambiente tumoral (MARTINS DE PAIVA et al., 2024; MASI et al., 2019; PAIVA et al., 2023; TAYOUB et al., 2018; TRUJILLO et al., 2023; WANG et al., 2021).

Embora diversas plantas da família tenham sido estudadas e demonstrado resultados promissores, na literatura não foram encontrados estudos recentes sobre o potencial antitumoral da espécie *Crinum scabrum*, assim como do seu alcaloide crinamina nas linhagens K562, KG1 e B16F10. Desse modo, este trabalho teve como objetivo analisar a atividade antitumoral da espécie e do seu alcaloide em linhagens celulares de leucemia mieloide aguda, leucemia mieloide crônica e melanoma.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a atividade antitumoral do extrato bruto, extrato metanólico e fração acetato de etila da planta *Crinum scabrum*, assim como do alcaloide isolado crinamina.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a viabilidade celular das linhagens de células tumorais K562 (leucemia mieloide crônica), KG1 (leucemia mieloide aguda) e B16F10 (melanoma) tratadas com os extratos de *Crinum scabrum* e com o alcaloide isolado crinamina.
- Avaliar a citotoxicidade dos extratos de *Crinum scabrum* e da crinamina em células da linhagem NIH/3T3 (fibroblastos de camundongos).
- Calcular a concentração inibitória média (CI50) e concentração citotóxica média (CC50).
- Estimar a seletividade das amostras quanto às linhagens tumorais.

5 METODOLOGIA

5.1 EXTRATOS E ALCÓIDE ISOLADO

O extrato bruto (EB), extrato metanólico e a fração acetato de etila (FAC) da planta *Crinum scabrum* foram elaborados e gentilmente cedidos pelo Departamento de Química da Universidade Federal do Espírito Santo. Brevemente, as partes frescas da planta foram secas em estufa para facilitar a trituração. O material triturado foi então submetido a três ciclos de maceração utilizando metanol como solvente. O metanol, por sua polaridade, é capaz de extrair uma ampla variedade de compostos, incluindo os alcalóides de interesse. Após cada ciclo, o extrato líquido foi filtrado para separar o material sólido. Em seguida, o solvente foi evaporado a vácuo, resultando no extrato, para análises químicas e testes biológicos (FEU, 2024). O alcalóide crinamina foi obtido por meio de extração ácido-base, isolado e purificados por diferentes ferramentas cromatográficas. O alcalóide foi identificado por métodos cromatográficos e espectroscópicos, conforme trabalhos anteriores (TALLINI et al., 2024b). As amostras foram diluídas em dimetilsulfóxido (DMSO – Sigma-Aldrich, USA) estéril na concentração de 100 mg/mL e armazenadas em geladeira (4°C) até o uso nos experimentos de viabilidade.

5.2 ATIVIDADE ANTITUMORAL

As células das linhagens K562 (leucemia mieloide crônica), KG1 (leucemia mieloide aguda) e B16F10 (melanoma) cultivadas em meio RPMI (Sigma-Aldrich/EUA), contendo soro bovino fetal a 10% (Cultilab/Brasil), 10 UI/mL de penicilina e 100 µg/mL de estreptomicina (Sigma-Aldrich/EUA) foram distribuídas em placas de 96 poços em condições padronizadas, com densidade celular de 1×10^4 . Os extratos nas concentrações de 1000 a 1,56 µg/ml foram adicionados aos poços. As placas foram incubadas a 37°C com 5% de CO₂ por 48 horas. Após esse período, a viabilidade das células foi avaliada pela adição de resazurina (Sigma-Aldrich/EUA) e leitura em espectrofotômetro SpectraMax M-Series Microplate Reader (Molecular Devices, USA) do Laboratório de Bioquímica Geral e de Microorganismos do Instituto de Biociências da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (INBIO-UFMS) em comprimento de onda de 570 e 600 nm. Para este ensaio, também foram utilizados o Laboratório de Biologia Molecular e Culturas Celulares da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Alimentos e Nutrição (FACFAN) e o Laboratório de Parasitologia Humana (INBIO). O cálculo da porcentagem de viabilidade foi feito para cada concentração do extrato em relação ao controle de vida (contendo apenas as células e o meio). O controle de morte foi o fármaco antineoplásico doxorrubicina nas concentrações de 0,078 a 5 µM. Para este ensaio de atividade antitumoral, também foram utilizados o Laboratório de

5.3 CITOTOXICIDADE

As células da linhagem NIH/3T3 (fibroblastos de camundongos) cultivadas em meio RPMI (Sigma-Aldrich/EUA), contendo soro bovino fetal a 10% (Cultilab/Brasil), 10 UI/mL de penicilina e 100 µg/mL de estreptomicina (Sigma-Aldrich/EUA) foram distribuídas em placas de 96 poços em condições padronizadas contendo os extratos nas concentrações de 15,125 a 1000 µg/ml e incubadas a 37°C com 5% de CO₂ por 48 horas. Após esse período, foi realizada a avaliação da viabilidade pela adição de resazurina (Sigma-Aldrich/EUA) e leitura em espectrofotômetro SpectraMax M-Series Microplate Reader (Molecular Devices, USA) do Laboratório de Bioquímica Geral e de Microorganismos (INBIO-UFMS), em comprimento de onda de 570 e 600 nm. Além do laboratório em questão, os ensaios foram realizados no Laboratório de Biologia Molecular e Culturas Celulares (FACFAN) e no Laboratório de Parasitologia Humana (INBIO). A porcentagem de viabilidade foi calculada para cada concentração em relação ao controle de vida (contendo as células e meio). O controle positivo de morte foi feito com uso de doxorrubicina nas concentrações de 0,078 a 5 µM.

5.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os experimentos foram realizados em quadruplicata. Foi utilizado o teste de ANOVA e pós-teste de Tukey, para comparar variâncias, com auxílio do programa GraphPad Prism 5.0. Os valores da concentração inibitória para 50% das células (CI₅₀) e concentração citotóxica para 50% das células (CC₅₀) foram obtidos por regressão não linear dos resultados, e o índice de seletividade (IS) foi obtido pela razão de CC₅₀ por CI₅₀.

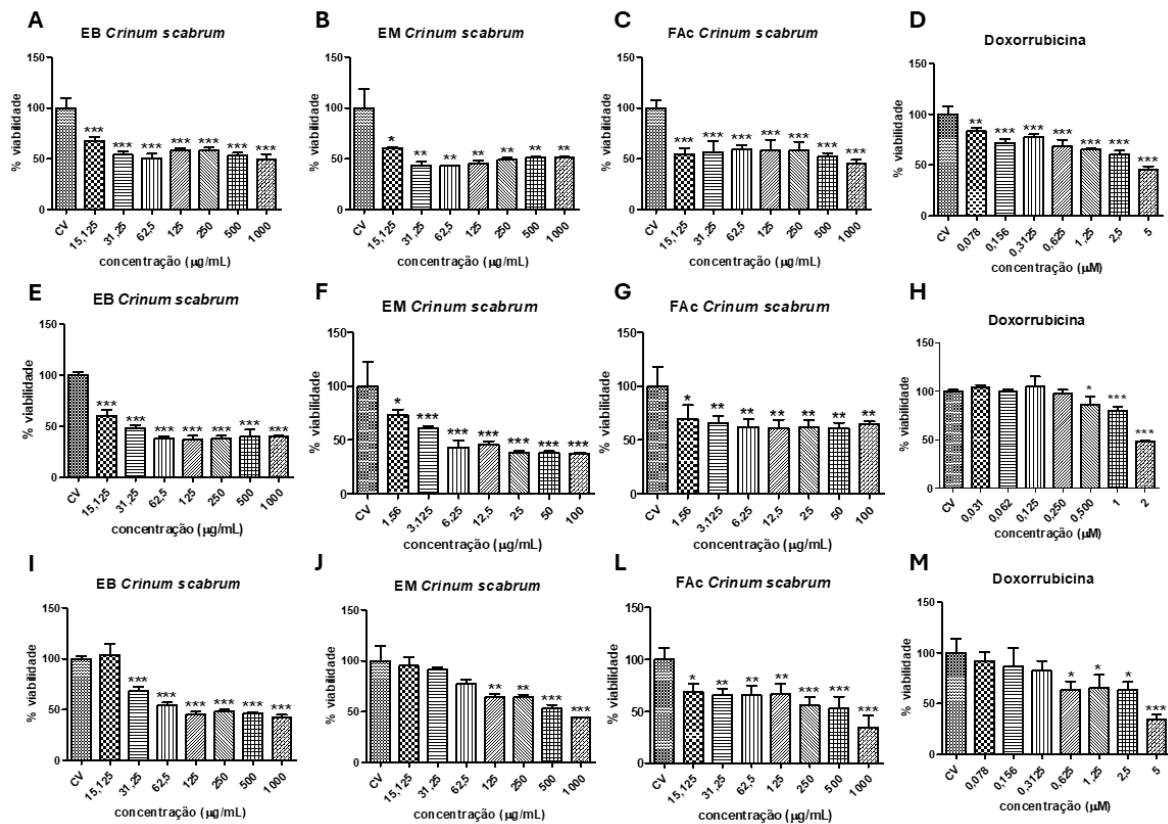
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 ATIVIDADE DOS EXTRATOS

Nos ensaios realizados, foram avaliados a atividade antitumoral do extrato bruto, extrato metanólico e a fração acetato de etila. Ambos reduziram a viabilidade das células das linhagens K562 (leucêmica mieloide crônica), KG1 (leucemia mieloide aguda) e B16F10 (melanoma) em relação ao controle de vida (Figura 2). Dentre os extratos, o metanólico se destacou por apresentar o melhor resultado nas linhagens leucêmicas, principalmente na linhagem KG1 (onde em uma concentração 10 vezes menor ao extrato bruto, ainda gerou efeito semelhante). Em contraste, na linhagem B16F10, o extrato bruto e a fração acetato de etila tiveram ação mais evidente que o extrato metanólico. Em comparação com a doxorrubicina (controle de morte), os extratos em diversas concentrações distintas apresentaram uma redução da viabilidade mais evidente, porém vale mencionar que a concentração da doxorrubicina testada, foi

em sua maioria inferior, por se tratar de um composto com citotoxicidade elevada, o que inviabiliza o seu uso em altas concentrações.

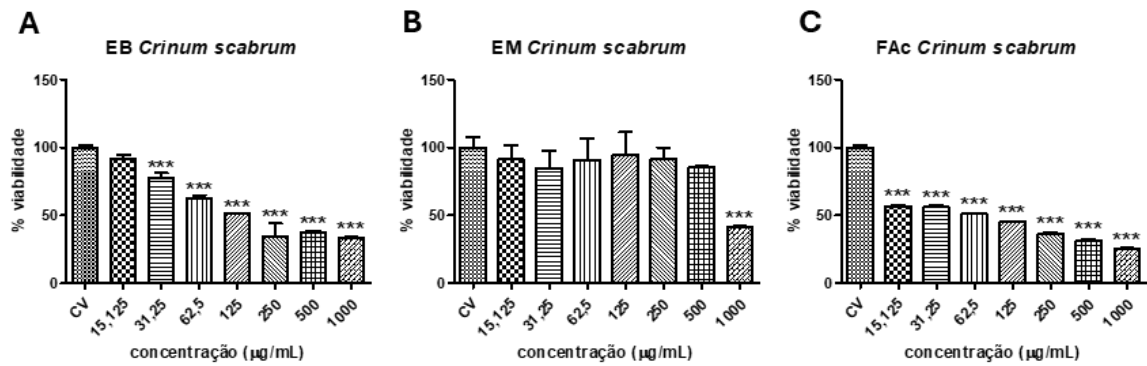
Figura 2. Atividade antitumoral do extrato bruto (EB), extrato metanólico (EM), fração acetato de etila (FAC) e doxorubicina nas linhagens celulares K562 (A, B, C e D), KG1 (E, F, G e H) e B16F10 (I, J, L, M). *, ** e *** significam $p < 0,05$, $p < 0,01$ e $p < 0,001$, respectivamente. (One-way ANOVA e pós-teste de Tukey).



Fonte: autoria própria, 2024.

A citotoxicidade em célula não tumoral também foi avaliada, através da linhagem celular NIH/3T3 (fibroblasto murino) (Figura 3). Embora os extratos tenham provocado redução da viabilidade celular nas linhagens tumorais testadas, o extrato bruto e a fração acetato de etila também causaram uma redução na viabilidade das células não tumorais, apontando uma ação citotóxica em linhagem não tumoral. Dessa forma, o perfil de segurança para o uso desses dois extratos deve ser avaliado com maior cautela, tendo em vista também os efeitos tóxicos já observados anteriormente na família (Paiva et. al., 2023). O extrato metanólico porém, não apresentou redução significativa da viabilidade celular até a concentração de 500 µg/ml. Indicando seletividade sobre as linhagens tumorais, tendo em vista ser este, o extrato que apresentou melhor atividade nas células leucêmicas (figura 2).

Figura 3. Citotoxicidade do extrato bruto (EB), extrato metanólico (EM) e fração acetato de etila (FAc) em linhagem NIH/3T3. *, ** e *** significam $p<0,05$, $p<0,01$ e $p<0,001$, respectivamente.



Fonte: autoria própria, 2024.

Foi realizada ainda uma regressão não linear, e calculadas as concentrações inibitórias para 50% das células (CI₅₀) e concentrações citotóxicas para 50% das células (CC₅₀), além do índice de seletividade (resultados expressos na Tabela 1). Para o presente trabalho, foi considerada como seletivo o índice de seletividade com valor superior a 2 (ação 2 vezes mais seletiva sobre a linhagem tumoral) ou superior ao da doxorrubicina.

Tabela 1: Resultados de CI₅₀, CC₅₀ e índice de seletividade das amostras de *Crinum scabrum*

Amostra	CI50 K562 (µg/mL)	CC50 fibroblastos NIH/3T3 (µg/mL)	Índice de seletividade (IS)
EB <i>Crinum scabrum</i>	49,28	50,97	1,03
EM <i>Crinum scabrum</i>	43,09	>1000	>23,25
FAc <i>Crinum scabrum</i>	64,76	20,13	0,31
Doxorrubicina	3,72	4,67	1,25

Amostra	CI50 KG1 (µg/mL)	CC50 fibroblastos NIH/3T3 (µg/mL)	Índice de seletividade (IS)
EB <i>Crinum scabrum</i>	25,11	50,97	2,03
EM <i>Crinum scabrum</i>	5,62	>1000	177,94
FAc <i>Crinum scabrum</i>	31,62	20,13	0,64
Doxorrubicina	1,99	4,67	2,35

Amostra	CI50 B16F10 (µg/mL)	CC50 fibroblastos NIH/3T3 (µg/mL)	Índice de seletividade (IS)
EB <i>Crinum scabrum</i>	177,83	50,97	0,29
EM <i>Crinum scabrum</i>	562,34	>1000	1,78
FAc <i>Crinum scabrum</i>	177,82	20,13	0,11
Doxorrubicina	2,15	4,67	2,17

CI₅₀: concentração inibitória de 50% das células; CC₅₀: concentração citotóxica em 50% das células NIH/3T3; IS: índice de seletividade, obtido pela razão entre CC₅₀ e CI₅₀.

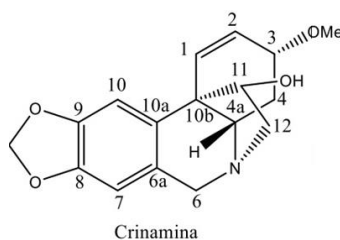
Em suma, com base nos valores da tabela 1, é possível confirmar que o extrato metanólico apresentou o melhor perfil de atividade, com um excelente perfil de seletividade frente as linhagens tumorais K562 e KG1 (índice de seletividade >23,25 para K562 e de 177,94 para KG1. Dessa forma, tal extrato apresenta ação sobre as células da linhagem tumoral KG1 em uma concentração 177 vezes menor que a citotóxica para a célula não tumoral testada. Os demais extratos, embora tenham mostrado atividade frente as linhagens testadas, apresentaram considerável citotoxicidade, de modo que o índice de seletividade foi em maioria relativamente baixos. A fração acetato de etila foi a mais citotóxica na linhagem de fibroblasto murino, apresentando em todas as linhagens testadas CI50 superior ao CC50, ou seja, uma concentração superior a citotóxica é necessária para causar o efeito esperado nas células tumorais. É importante mencionar que a linhagem B16F10 apresentou o maior perfil de resistência frente a todos os extratos testados.

O metanol é um solvente de alta polaridade, que pode ser usado para a extração direta de alcaloides presentes de materiais vegetais. Porém, podem estar presentes no extrato metanólico outros grupos metabólicos vegetais, como flavononas, flavonóis, aurona, chalconas e flavonóides glicosilados, tendo em vista a sua capacidade de também extrair tais substâncias (Simões et. al., 2021). Além da atividade antitumoral descrita para os alcalóides da família, flavonóides e derivados cumarínicos (compostos não alcalóides) de outras espécies do gênero *Crinum* foram ativos em linhagens tumorais HeLa e A431 (MASI et al., 2019; PAIVA et al., 2023; TALLINI et al., 2024a). Dessa forma, a análise química e caracterização do extrato ainda se faz necessária, a fim de identificar as substâncias presentes que podem estar relacionadas ao efeito antitumoral observado.

6.2 ATIVIDADE DA CRINAMINA

A atividade antitumoral do alcaloide isolado crinamina foi testada sobre as linhagens K562, KG1 E B16F10 (Figura 5). A crinamina apresenta o esqueleto isoquinolínico em sua estrutura, assim como os principais alcalóides destacados da família Amaryllidaceae, divergindo dos demais principalmente em relação aos grupamentos químicos e substituintes ligados ao esqueleto isoquinolínico e alterações na cadeia química (VIGAMONTE, 2021).

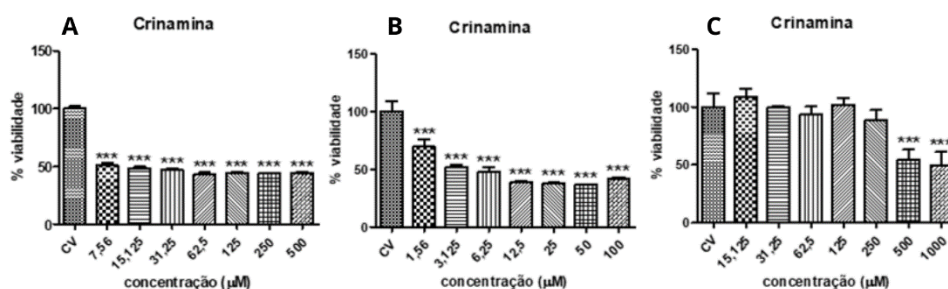
Figura 4. Alcaloide crinamina.



Fonte: Vigamonte, 2021.

No ensaio realizado nas linhagens tumorais K562 e KG1, a crinamina reduziu a viabilidade celular nas concentrações testadas, em relação ao controle de vida (contendo apenas as células no meio de diluição). Para a linhagem B16F10 não houve redução significativa da viabilidade das células em concentrações inferiores a 500 μM , indicando possível resistência da linhagem frente ao composto.

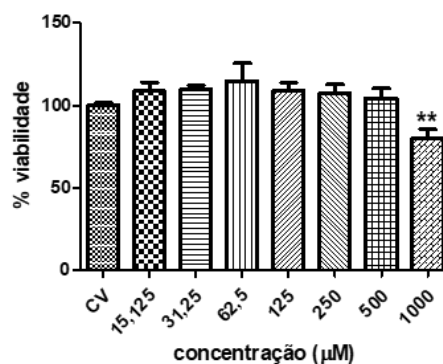
Figura 5. Atividade antitumoral da crinamina nas linhagens celulares K562 (A), KG1 (B) e B16F10 (C). *, ** e *** significam $p < 0,05$, $p < 0,01$ e $p < 0,001$, respectivamente. (One-way ANOVA e pós-teste de Tukey).



Fonte: autoria própria, 2024.

O alcaloide também foi avaliado quanto à citotoxicidade na linhagem celular NIH/3T3. Onde nas concentrações até 500 μM não houve redução significativa da viabilidade celular do controle não tumoral (Figura 6), indicando seletividade as linhagens tumorais avaliadas.

Figura 6: Avaliação da citotoxicidade da crinamina na linhagem NIH/3T3. *, ** e *** significam $p < 0,05$, $p < 0,01$ e $p < 0,001$, respectivamente.



Fonte: autoria própria, 2024.

Assim como para os extratos, a CI50, CC50 e o índice de seletividade também foram calculados (Tabela 2).

Tabela 2: Resultados de CI_{50} , CC_{50} e índice de seletividade da amostra do alcalóide da Família Amaryllidaceae.

Alcalóide	CI_{50} K562 (μM)	CC_{50} fibroblastos NIH/3T3 (μM)	Índice de seletividade (IS)
Crinamina	12,59	>1000	79,43
Doxorrubicina	3,72	4,67	1,25

Alcalóide	CI_{50} KG1 (μM)	CC_{50} fibroblastos NIH/3T3 (μM)	Índice de seletividade (IS)
Crinamina	3,48	>1000	287,35
Doxorrubicina	1,99	4,67	2,35

Alcalóide	CI_{50} B16 (μM)	CC_{50} fibroblastos NIH/3T3 (μM)	Índice de seletividade (IS)
Crinamina	1333,52	>1000	0,75
Doxorrubicina	2,15	4,67	2,17

CI_{50} : concentração inibitória de 50% nas células; CC_{50} : concentração citotóxica em 50% das células NIH/3T3; IS: índice de seletividade, obtido pela razão entre CC_{50} e CI_{50} .

De acordo com a tabela 2, é possível observar que o valor de CI_{50} da crinamina nas linhagens KG1 e K562 foi consideravelmente baixo (3,48 e 12,59 μM , respectivamente), em relação ao CC_{50} da linhagem NIH/3T3, que foi superior a 1000 μM . Desse modo, a concentração necessária para o efeito observado na linhagem KG1 é 287 vezes menor em relação a concentração para causar efeito tóxico na célula não tumoral, e 79 vezes em relação ao efeito da linhagem K562 frente a célula não tumoral. Para termos de comparação, a doxorrubicina apresentou seletividade de 1,25 e 2,35 nas linhagens K562 e KG1, respectivamente, o que representa uma grande diferença do índice de seletividade do alcaloide (79,43 na linhagem K562 e 287,35 na linhagem KGI). Assim, a crinamina se mostrou evidentemente mais seletiva as linhagens tumorais mencionadas, do que a própria doxorrubicina. A seletividade observada corrobora com o descrito em um outro estudo que também apontou efeito seletivo de outros alcaloides da mesma família sobre linhagens celulares diferentes (HABLI et al., 2017; MARTINS DE PAIVA et al., 2024). Logo, o alcaloide em questão exibiu atividade antitumoral significativa nas linhagens KG1 e K562, sendo uma alternativa promissora para futuros estudos de agentes com potencial anticâncer.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O extrato metanólico e a crinamina mostraram atividade antitumoral significativa nas linhagens de leucemia mieloide aguda (KG1) e leucemia mieloide crônica (K562),

reduzindo a viabilidade celular, com um alto índice de seletividade sobre as linhagens tumorais, frente a linhagem não tumoral testada (NIH/3T3). Corroborando assim com os estudos anteriores que destacaram a presença de componentes ativos nas espécies da família Amaryllidaceae. Os demais extratos, embora tenham reduzido a viabilidade celular das linhagens testadas, apresentaram citotoxicidade considerável na linhagem não tumoral testada, exigindo maior investigação quanto ao perfil de segurança. A linhagem B16F10 (melanoma), foi mais resistente frente aos extratos testados, em relação ao observado nas outras linhagens. Desse modo, estudos futuros ainda são necessários, e podem elucidar a caracterização fitoquímica completa da espécie *Crinum scabrum*, identificar as substâncias presentes no extrato metanólico, e que podem estar relacionadas a redução da viabilidade observada nas células tumorais, além de investigar os prováveis alvos moleculares e mecanismos de ação associado. Ademais, tais estudos também podem avaliar a atividade sobre outras linhagens tumorais e não tumorais, ainda não testados. Diante do cenário atual e crescente do câncer, o presente trabalho identificou atividade anticâncer promissora do extrato metanólico de *Crinum scabrum* e do alcaloide crinamina (presente em abundância na espécie). Contribuindo de forma significativa na busca por novos compostos ativos e novas possibilidades terapêuticas, permitindo que estudos futuros sejam desenvolvidos como alternativas para amenizar a problemática e contribuir em estratégias no avanço do tratamento oncológico.

REFERÊNCIAS

- ABC do câncer: abordagens básicas para o controle do câncer / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. – 6. ed. rev. atual. – Rio de Janeiro: INCA, 2020.
- AMERICAN CANCER SOCIETY. Cancer Types. Leukemia. Atlanta: American Cancer Society, 2024a. Disponível em: <https://www.cancer.org/cancer/leukemia.html>. Acesso em: 24 nov. 2024.
- AMERICAN CANCER SOCIETY. Cancer Types. Melanoma Skin Cancer. Atlanta: American Cancer Society, 2024b. Disponível em: <https://www.cancer.org/cancer/types/melanoma-skin-cancer.html>. Acesso em: 24 nov. 2024.
- AZIZ, A. et al. Evaluation of In vitro Anthelmintic Activity, Total Phenolic Content and Cytotoxic Activity of *Crinum latifolium* L. (Family: Amaryllidaceae). **Advanced Pharmaceutical Bulletin; eISSN 2251-7308**, 2014.
- BASTIDA, J.; LAVILLA, R.; VILADOMAT, F. Chapter 3 Chemical and Biological Aspects of Narcissus Alkaloids. Em: **The Alkaloids: Chemistry and Biology**. [s.l.] Elsevier, 2006. v. 63p. 87–179.
- BERKOV, S. et al. Chemodiversity, chemotaxonomy and chemoeecology of Amaryllidaceae alkaloids. Em: **The Alkaloids: Chemistry and Biology**. [s.l.] Elsevier, 2020. v. 83p. 113–185.
- Câncer de Pele Melanoma — Instituto Nacional de Câncer - INCA**. Disponível em: <<https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/tipos/pele-melanoma>>. 2022c. Acesso em: 24 nov. 2024.
- Câncer hoje**. Disponível em: <<https://gco.iarc.who.int/today/en/fact-sheets-cancers>>. Acesso em: 29 maio. 2024.
- CAO, Z. et al. Lycorine hydrochloride selectively inhibits human ovarian cancer cell proliferation and tumor neovascularization with very low toxicity. **Toxicology Letters**, v. 218, n. 2, p. 174–185, abr. 2013.
- Com casos de câncer em crescimento, OMS pede igualdade no acesso a cuidados | ONU News**. Disponível em: <<https://news.un.org/pt/story/2024/02/1827107>>. Acesso em: 28 maio. 2024.
- CORTES, N. et al. Neuroprotective activity and acetylcholinesterase inhibition of five Amaryllidaceae species: A comparative study. **Life Sciences**, v. 122, p. 42–50, fev. 2015.
- Crinum escabro | Índice Internacional de Nomes de Plantas**. Disponível em: <<https://www.ipni.org/n/64054-1>>. Acesso em: 6 jun. 2024.
- DASARI, S. et al. Pharmacological Effects of Cisplatin Combination with Natural Products in Cancer Chemotherapy. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 3, p. 1532, 28 jan. 2022.
- Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. [s.l.] Artmed, 2021.
- FEU, A. **Identificação de alcaloides em extratos de espécies de Amaryllidaceae através da técnica de CL-EM suportada por estratégia de rede molecular e avaliação da atividade antiparasitária**. Identification of alkaloids in Amaryllidaceae species extracts through the technique of CL-EM supported by molecular network strategy and assessment of antiparasitic activity. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Espírito Santo. Disponível em: <https://repositorio.ufes.br/server/api/core/bitstreams/087da227-cd8f-4314-acdc->

87e0b209e902/content. Acesso em: 1 dez. 2024.

GASCA, C. A. et al. Acetylcholinesterase inhibitory activity, anti-inflammatory, and neuroprotective potential of *Hippeastrum psittacinum* (Ker Gawl.) herb (Amaryllidaceae). **Food and Chemical Toxicology**, v. 145, p. 111703, nov. 2020.

HABLI, Z. et al. Emerging Cytotoxic Alkaloids in the Battle against Cancer: Overview of Molecular Mechanisms. **Molecules**, v. 22, n. 2, p. 250, 8 fev. 2017.

HANAHAN, D. Hallmarks of Cancer: New Dimensions. **Cancer Discovery**, v. 12, n. 1, p. 31–46, 1 jan. 2022.

HAVELEK, R. et al. Anticancer potential of Amaryllidaceae alkaloids evaluated by screening with a panel of human cells, real-time cellular analysis and Ehrlich tumor-bearing mice. **Chemico-Biological Interactions**, v. 275, p. 121–132, set. 2017.

KHUMKHRONG, P. et al. Crinamine Induces Apoptosis and Inhibits Proliferation, Migration, and Angiogenesis in Cervical Cancer SiHa Cells. **Biomolecules**, v. 9, n. 9, p. 494, 16 set. 2019.

Instituto Nacional de Câncer. **Estimativa 2023: incidência de câncer no Brasil**. Rio de Janeiro, RJ: Instituto Nacional De Câncer, 2022a.

Leucemia — Instituto Nacional de Câncer - INCA. Disponível em: <<https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/tipos/leucemia>>. 2022b. Acesso em: 24 nov. 2024.

Leucemias. Abrale, [s.d.]. Disponível em: <<https://abrale.org.br/doencas/leucemia/>>. Acesso em: 24 nov. 2024

LI, Z. et al. Lycorine upregulates the expression of RMB10, promotes apoptosis and inhibits the proliferation and migration of cervical cancer cells. **International Journal of Molecular Medicine**, v. 50, n. 6, p. 145, 9 nov. 2022.

LIM, C. P. et al. Cytostatic and Antiproliferative Activities of F5 Fraction of *Crinum amabile* Leaf Chloroform Extract Showed Its Potential as Cancer Chemotherapeutic Agent. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2019, p. 1–13, 11 abr. 2019.

LIU, J. et al. Effects of lycorine on HL-60 cells via arresting cell cycle and inducing apoptosis. **FEBS Letters**, v. 578, n. 3, p. 245–250, 17 dez. 2004.

LIU, X. et al. Lycorine induces apoptosis and down-regulation of Mcl-1 in human leukemia cells. **Cancer Letters**, v. 274, n. 1, p. 16–24, fev. 2009.

LÓPEZ, S. et al. Acetylcholinesterase inhibitory activity of some Amaryllidaceae alkaloids and Narcissus extracts. **Life Sciences**, v. 71, n. 21, p. 2521–2529, out. 2002.

MARTINEZ-PEINADO, N. et al. Anti-Trypanosoma cruzi activity of alkaloids isolated from Habranthus brachyandrus (Amaryllidaceae) from Argentina. **Phytomedicine**, v. 101, p. 154126, jul. 2022.

MARTINS DE PAIVA, M. J. et al. Antitumor evaluation of amaryllidaceae alkaloids on cancer cell lines: A literature review. **Electronic Journal of General Medicine**, v. 21, n. 1, p. em562, 1 jan. 2024.

MASI, M. et al. Alkaloids isolated from Haemanthus humilis Jacq., an indigenous South African Amaryllidaceae: Anticancer activity of coccinine and montanine. **South African Journal of Botany**, v. 126, p. 277–281, nov. 2019.

MATHIEU, V. et al. Amaryllidaceae Alkaloids Decrease the Proliferation, Invasion, and Secretion of Clinically Relevant Cytokines by Cultured Human Colon Cancer Cells.

Biomolecules, v. 12, n. 9, p. 1267, 9 set. 2022.

NAIR, J. J.; VAN STADEN, J. Cell cycle modulatory effects of Amaryllidaceae alkaloids. **Life Sciences**, v. 213, p. 94–101, nov. 2018.

NASIR, S. et al. Larvicidal activity of acetone extract and green synthesized silver nanoparticles from *Allium sativum* L. (Amaryllidaceae) against the dengue vector *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 25, n. 3, p. 101937, set. 2022.

NEERGAARD, J. S. et al. Alkaloids from *Boophone disticha* with affinity to the serotonin transporter. **South African Journal of Botany**, v. 75, n. 2, p. 371–374, abr. 2009.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. **Journal of Natural Products**, v. 83, n. 3, p. 770–803, 27 mar. 2020.

OMORUYI, S. I. et al. In vitro neuroprotective potential of *Clivia miniata* and *Nerine humilis* (Amaryllidaceae) in MPP⁺-induced neuronal toxicity in SH-SY5Y neuroblastoma cells. **South African Journal of Botany**, v. 136, p. 110–117, jan. 2021.

PAIVA, M. J. M. et al. Pharmacological and toxicological effects of Amaryllidaceae. **Brazilian Journal of Biology**, v. 83, p. e277092, 2023.

SCOBEYEVA, V. A. et al. Gene Loss, Pseudogenization in Plastomes of Genus *Allium* (Amaryllidaceae), and Putative Selection for Adaptation to Environmental Conditions. **Frontiers in Genetics**, v. 12, p. 674783, 8 jul. 2021.

SUNG, H. et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 71, n. 3, p. 209–249, maio 2021.

TALLINI, L. R. et al. Alkaloid Profiling and Cholinesterase Inhibitory Potential of *Crinum × amabile* Donn. (Amaryllidaceae) Collected in Ecuador. **Plants**, v. 10, n. 12, p. 2686, 7 dez. 2021.

TALLINI, L. R. et al. Antitumoral activity of different Amaryllidaceae alkaloids: In vitro and in silico assays. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 329, p. 118154, jul. 2024a.

TALLINI, L. R. et al. Antitumoral activity of different Amaryllidaceae alkaloids: *In vitro* and in silico assays. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 329, p. 118154, 15 jul. 2024b.

TAYOUB, G. et al. Antiproliferative Effects of *Pancreaticum Maritimum* Extracts on Normal and Cancerous Cells. **Iranian Journal of Medical Sciences**, v. 43, n. 1, p. 52–64, jan. 2018.

Tropicos | Name - *Crinum scabrum*. Disponível em: <<https://www.tropicos.org/name/1201699>>. Acesso em: 6 jun. 2024.

TRUJILLO, L. et al. Cytotoxic Activity of Amaryllidaceae Plants against Cancer Cells: Biotechnological, In Vitro, and In Silico Approaches. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 28, n. 6, p. 2601, 13 mar. 2023.

VAN GOIETSENOVEN, G. et al. Narciclasine as well as other Amaryllidaceae Isocarboxystyrls are Promising GTP-ase Targeting Agents against Brain Cancers. **Medicinal Research Reviews**, v. 33, n. 2, p. 439–455, mar. 2013.

WANG, M. et al. Narciclasine, a novel topoisomerase I inhibitor, exhibited potent anti-cancer activity against cancer cells. **Natural Products and Bioprospecting**, v. 13, n. 1, p. 27, dez. 2023.

WANG, Z.-Y. et al. Traditional Chinese medicine compounds regulate autophagy for treating

neurodegenerative disease: A mechanism review. **Biomedicine & Pharmacotherapy = Biomedecine & Pharmacotherapie**, v. 133, p. 110968, jan. 2021.

WEINBERG, R. A. **The biology of cancer**. 2. ed ed. New York, NY: Garland Science/Taylor & Francis, 2014.

ZHANG, P. et al. Lycorine inhibits cell proliferation, migration and invasion, and primarily exerts *in vitro* cytostatic effects in human colorectal cancer via activating the ROS/p38 and AKT signaling pathways. **Oncology Reports**, v. 45, n. 4, p. 19, 5 fev. 2021.