



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

Ana Christina Souza Chagas Melo

**ESTUDO QUÍMICO DE *Zephyranthes irwiniana* (Ravenna) Nic. García
(AMARYLLIDACEAE)**

**BRASÍLIA
2024**

Ana Christina Souza Chagas Melo

**ESTUDO QUÍMICO DE *Zephyranthes irwiniana* (Ravenna) Nic. García
(AMARYLLIDACEAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Dâmaris Silveira
Coorientador: Dr. João Victor Dutra Gomes

BRASÍLIA

2024

Ana Christina Souza Chagas Melo

**ESTUDO QUÍMICO DE *Zephyranthes irwiniana* (Ravenna) Nic. García
(AMARYLLIDACEAE)**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Aprovada em ____ de _____ de 2024.

Banca examinadora:

Prof.^a Dr.^a Dâmaris Silveira – Universidade de Brasília (UnB)

Prof. Dr. Gerlon de Almeida Ribeiro Oliveira – Universidade de Brasília (UnB)

Dr. Edson Oliveira Pereira – Ensino Superior Albert Sabin (ESAS)

Prof.^a Dr.^a Claudia Masrouah Jamal (Suplente) – Universidade Federal do Espírito Santo (UFES)

“Eu não tenho nenhum talento especial.
Sou apenas apaixonadamente curioso.”
Albert Einstein

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pela oportunidade de vivenciar tamanha experiência, e pelas forças concedidas.

À toda minha família, em especial ao meu esposo Thiago e minha filha Isabella, pelo apoio, paciência e amor nos momentos mais difíceis. Aos meus pais Clebio e Mariulda e meus irmãos Bruno e Maria, pelo amor incondicional.

À minha professora e orientadora Dra. Dâmaris Silveira pela paciência na orientação, pelo apoio, incentivo durante o desenvolvimento deste trabalho e por me proporcionar esta oportunidade.

Ao meu coorientador, João Victor Dutra Gomes, pelos ensinamentos, por cada palavra, apoio científico e amizade.

A todos do Laboratório de Produtos Naturais e Controle da Qualidade de Medicamentos da Universidade de Brasília, por me receberem, pela disposição em me ajudar e pela troca de experiência e ensinamentos.

Ao programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas e todos os professores.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) – Código de Financiamento 001, Fundação de Amparo à Pesquisa do Distrito Federal (FAP-DF) e Universidade de Brasília (UnB) pelo apoio financeiro disponibilizado para realização deste trabalho e participações em eventos científicos.

RESUMO

CHAGAS MELO, Ana Christina S. ESTUDO QUÍMICO DE *Zephyranthes irwiniana* (Ravenna) Nic. García (AMARYLLIDACEAE). Brasília, 2024. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2024.

Zephyranthes irwiniana (Ravenna) Nic. García é uma espécie endêmica do Cerrado, pertencente à família Amaryllidaceae, reconhecida por sua alta concentração de alcaloides com diversas atividades farmacológicas, dos quais o mais proeminente é a inibição da acetilcolinesterase (AChE), relevantes no tratamento da Doença de Alzheimer. Apesar do potencial farmacológico dos alcaloides dessa família, incluindo a capacidade de inibir a AChE e atuar contra células tumorais, há escassez de dados específicos sobre o perfil químico e biológico de *Z. irwiniana*. Este estudo teve como objetivo caracterizar os compostos bioativos presentes em diferentes partes de *Z. irwiniana* e avaliar sua eficácia biológica, fornecendo dados sobre sua composição química e atividades biológicas. Foram analisados extratos e frações de raízes, bulbos e folhas de *Z. irwiniana* obtidos por micropropagação. As amostras foram submetidas a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) resultando na identificação de seis alcaloides, licorina, nerinina, hipeastrina, isoquinolina, neronina, anidrolícorina, além de outros metabólitos como β -sitosterol e esqualeno. Os resultados indicaram que o extrato etanólico da raiz apresentou o maior potencial inibitório sobre a AChE, com IC₅₀ próximo a 200 μ g/mL. Embora a atividade tenha sido inferior à da galantamina (0,48 μ g/mL), é importante considerar que se trata de um extrato bruto. Em contrapartida, os extratos hexânicos e aquosos não exibiram atividade significativa. A avaliação antioxidante revelou que o extrato etanólico da raiz possui elevada capacidade redutora, sugerindo que os compostos responsáveis por essa atividade estão concentrados nesse extrato. Este estudo reforça a importância de *Z. irwiniana* como fonte promissora de compostos bioativos, especialmente alcaloides como a licorina, considerada marcador da família Amaryllidaceae.

Palavras-chave: *Zephyranthes irwiniana*; alcaloides; Acetilcolinesterase (AChE).

ABSTRACT

CHAGAS MELO, Ana Christina S. CHEMICAL STUDY OF *Zephyranthes irwiniana* (Ravenna) Nic. García (AMARYLLIDACEAE). Brasília, 2024. Thesis (Master's Degree in Pharmaceutical Sciences) – Faculty of Health Sciences, University of Brasília, Brasília, 2024.

Zephyranthes irwiniana (Ravenna) Nic. García, an endemic species of the Cerrado biome, belonging to the Amaryllidaceae family, is recognized for its high alkaloid content, which exhibits diverse pharmacological properties, including acetylcholinesterase (AChE) inhibition. These activities are of particular relevance for the treatment of Alzheimer's disease. Despite the known potential of Amaryllidaceae alkaloids, the chemical and biological profile of *Z. irwiniana* remains largely unexplored. This study aimed to contribute to fill this knowledge gap by characterizing the bioactive compounds in different parts of *Z. irwiniana* and assessing the extracts' biological efficacy. Extracts and fractions from roots, bulbs, and leaves of *Z. irwiniana* obtained through micropropagation were assessed. The samples were subjected to gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), resulting in the identification of six alkaloids - lycorine, nerinine, hippeastrine, isoquinoline, neronine, anhydrolycorine - as well as other metabolites such as β -sitosterol and squalene. Among the samples tested, the root ethanolic extract showed the highest AChE inhibitory potential with an IC_{50} value of approximately 200 $\mu\text{g/mL}$. Although this activity was lower than that of galantamine, used as positive control (IC_{50} 0,48 $\mu\text{g/mL}$), it is important to consider that this effect refers to a complex mixture (crude extract). The antioxidant evaluation revealed that the same ethanolic root extract presented a higher reducing capacity than the other evaluated samples. This study underscores the importance of *Z. irwiniana* as a promising source of bioactive compounds, particularly alkaloids such as lycorine, considered a marker for Amaryllidaceae.

Keywords: *Zephyranthes irwiniana*; alkaloids; acetylcholinesterase (AChE).

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
1.1	Produtos naturais e a biodiversidade dos biomas brasileiros	16
1.2	Família Amaryllidaceae e sua distribuição	19
1.3	Classificação dos alcaloides de Amaryllidaceae	21
1.4	Biossíntese dos alcaloides da família Amaryllidaceae	27
1.5	Gênero <i>Zephyranthes</i>	29
1.6	Espécies estudadas pertencentes ao gênero <i>Zephyranthes</i>	36
1.6.1	<i>Zephyranthes candida</i> (Lindl.) Herb.	36
1.6.2	<i>Zephyranthes ajax</i> Hort.	39
1.6.3	<i>Zephyranthes grandiflora</i> Lindl.	39
1.6.4	<i>Zephyranthes citrina</i> Baker.	40
1.6.5	<i>Zephyranthes carinata</i> Herb.	41
1.6.6	<i>Zephyranthes minuta</i> (Kunth) D.Dietr.	41
1.6.7	<i>Zephyranthes fosteri</i> Traub.	41
1.6.8	<i>Zephyranthes irwiniana</i> (Ravenna) Nic García.	42
1.7	A Doença de Alzheimer	45
1.8	Inibidores da Acetilcolinesterase	47
1.9	Justificativa para o estudo químico e biológico dos extratos <i>Z. irwiniana</i> .	50
2	OBJETIVOS	52
2.1	Objetivo geral	52
2.1	Objetivos específicos	52
3	MATERIAIS E MÉTODOS	53
3.1	Preparo da amostra vegetal	53
3.2	Preparo dos extratos e frações	54
3.3	Extração seletiva de alcaloides a partir dos extratos orgânicos obtidos	57
3.4	Cromatografia em Camada Delgada (CCD)	58
3.5	Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectroscopia de Massas (CG-EM)	59
3.6	Avaliação da atividade de inibição da acetilcolinesterase	60

3.7	Determinação da atividade antioxidante pela captura do radical DPPH•	63
3.8	Análise da atividade antioxidante pelo método FRAP	64
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	67
4.1	Rendimento dos extratos e frações	67
4.2	Obtenção das frações alcaloídicas	68
4.3	Cromatografia em Camada Delgada (CCD)	69
4.4	Análise de CG-EM	71
4.5	Determinação da atividade de inibição da acetilcolinesterase pelos extratos e frações de <i>Zephyranthes irwiniana</i>	89
4.6	Caracterização da atividade antioxidante de <i>Zephyranthes irwiniana</i>	92
4.6.1	Método do sequestro do radical livre DPPH•	92
4.6.2	Método Antioxidante da Redução Férrica (Ferric Reducing Antioxidant Power, FRAP)	95
5	CONCLUSÃO	97
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	98
7	APÊNDICES	

FIGURAS

Figura 1	Representantes da família de Amaryllidaceae: <i>Crinum latifolium</i> L. e <i>Zephyranthes irwiniana</i> (Ravenna) Nic.García.	18
Figura 2	Variedade de espécies de Amaryllidaceae: <i>Hippeastrum stapfianum</i> (Kraenzl.) R. S. Oliveira & Dutilh, <i>Zephyranthes irwiniana</i> (Ravenna) Nic. García, <i>Crinum americanum</i> L.	20
Figura 3	Distribuição de espécies de Amaryllidaceae ocorrentes no Brasil por domínio fitogeográfico.	20
Figura 4	Estrutura molecular de alguns alcaloides isoquinolínicos de interesse terapêutico.	23
Figura 5	Esqueletos básicos de alcaloides de Amaryllidaceae.	24
Figura 6	Estrutura molecular dos alcaloides (Amaryllidaceae) com propriedades anticancerígenas (HULCOVÁ et al., 2018).	25
Figura 7	Estruturas de alguns alcaloides de Amaryllidaceae.	27
Figura 8	Esquema da biossíntese e acoplamento oxidativo intramolecular dos alcaloides da família Amaryllidaceae.	28
Figura 9	Estruturas químicas de alguns alcaloides de Amaryllidaceae (KA et al., 2020; ZHAN et al., 2023).	38
Figura 10	Estruturas químicas de alguns alcaloides de Amaryllidaceae (ZHAN et al., 2023; YANG et al., 2022).	40
Figura 11	Estruturas químicas de alguns alcaloides de Amaryllidaceae (CAHLÍKOVÁ et al., 2021; KOHELOVÁ et al., 2021; SIERRA et al., 2022).	42
Figura 12	Fotografia de <i>Zephyranthes irwiniana</i> , realçando a flor e folhas.	43
Figura 13	Estrutura química dos fármacos donepezila, rivastigmina e galantamina.	47
Figura 14	Estrutura da tacrina.	49
Figura 15	A cronologia das aprovações de medicamentos contra a Doença de Alzheimer pelo FDA.	50
Figura 16	Micropropagação da espécie vegetal <i>Zephyranthes irwiniana</i> . À direita, um exemplar fresco após coleta.	54
Figura 17	Esquema ilustrativo da micropropagação com a logística de cultivo de <i>Zephyranthes irwiniana</i> em Brasília, Distrito Federal.	54
Figura 18	Esquema de extração de material vegetal obtido de <i>Zephyranthes irwiniana</i> .	56
Figura 19	Esquema representando os ensaios biológicos e químicos em amostras de <i>Zephyranthes irwiniana</i> (Ravenna) Nic. García.	57
Figura 20	Esquema representando a extração seletiva de alcaloides de <i>Zephyranthes irwiniana</i> .	58

Figura 21	Esquema de reações do ensaio acetilcolinesterase pelo método de Ellman.	61
Figura 22	Esquema ilustrativo do ensaio de inibição de acetilcolinesterase (AChE) pelo método de Ellman.	63
Figura 23	Redução do complexo férrico $[\text{Fe}^{3+}(\text{TPTZ})_2]^{3+}$ a ferroso $[\text{Fe}^{2+}(\text{TPTZ})_2]^{2+}$, pela ação do antioxidante.	65
Figura 24	Cromatograma, por CCD, do extrato etanólico da folha (F), bulbo (B) e raiz (R) de <i>Zephyranthes irwiniana</i> .	69
Figura 25	Cromatograma, por CCD, do extrato etanólico da raiz (R), folha (F), bulbo (B), β -sitosterol (S) e ponto misto (PM) de <i>Zephyranthes irwiniana</i> .	70
Figura 26	Cromatograma, por CCD, do extrato etanólico da raiz (R), folha (F), bulbo (B), β -sitosterol (S) e ponto misto (PM) de <i>Zephyranthes irwiniana</i> .	70
Figura 27	Estruturas químicas dos alcaloides identificados de <i>Zephyranthes irwiniana</i> (Amaryllidaceae).	72
Figura 28	Cromatograma do extrato hexânico bruto da raiz de <i>Z. irwiniana</i> (EH_R).	73
Figura 29	Cromatograma fração alcaloídica hexânica da raiz de <i>Z. irwiniana</i> (FAH_R).	74
Figura 30	Cromatograma do extrato hexânico do bulbo de <i>Z. irwiniana</i> (EH_B).	75
Figura 31	Cromatograma fração alcaloídica hexânica bulbo de <i>Z. irwiniana</i> (FAH_B).	75
Figura 32	Cromatograma fração alcaloídica hexânica folha de <i>Z. irwiniana</i> (FAH_F).	77
Figura 33	Cromatograma fração alcaloídica acetato de etila da raiz de <i>Z. irwiniana</i> (FAAE_R).	79
Figura 34	Espectro de massas e fragmentação proposta para o alcaloide licorina.	79
Figura 35	Cromatograma fração alcaloídica acetato de etila bulbo de <i>Z. irwiniana</i> (FAAE_B).	81
Figura 36	Cromatograma fração alcaloídica acetato de etila folha de <i>Z. irwiniana</i> (FAAE_F).	81
Figura 37	Cromatograma fração alcaloídica acetato de etila metanol raiz de <i>Z. irwiniana</i> (FAAEM_R).	82
Figura 38	Cromatograma fração alcaloídica acetato de etila metanol bulbo de <i>Z. irwiniana</i> (FAAEM_B).	83
Figura 39	Cromatograma fração alcaloídica acetato de etila metanol folha de <i>Z. irwiniana</i> (FAAEM_F).	84
Figura 40	Espectros de massas do pico em 226 e 109 minutos da FAAE_R.	87
Figura 41	Espectros de massas do pico da FAAE_B, em 109, 250, 296 e 226 minutos.	87
Figura 42	Espectros de massas do pico em 226 minutos da FAAE_F.	88

Figura 43	Espectros de massas do pico em 125 minutos da FAAEM.	88
Figura 44	Espectros de massas do pico em 109 minutos da FAH.	88
Figura 45	Inibição da acetilcolinesterase por extrato etanólico de raízes, bulbos e folhas de <i>Zephyranthes irwiniana</i> .	90
Figura 46	Estabilização do radical DPPH [•] pelo deslocamento do elétron desemparelhado.	93
Figura 47	Correlação entre a porcentagem de inibição e a variação de concentração do extrato etanólico de <i>Zephyranthes irwiniana</i> (raiz, bulbo e folha).	94
Figura 48	Efeito da atividade do ácido ascórbico (controle positivo) em sequestrar o radical livre DPPH [•] controle positivo: ácido ascórbico.	94
Figura 49	Curva de calibração da solução de sulfato ferroso no ensaio TPTZ (2,4,6-tripiridil-S-triazina). Correlação entre a absorbância do sulfato ferroso a 593 nm e a variação da concentração em μM .	95
Figura 50	Avaliação da atividade antioxidante das amostras extrato etanólico bulbo, folha e raiz de <i>Zephyranthes irwiniana</i> pelo método FRAP.	96

TABELAS

Tabela 1	Principais estruturas químicas de alcaloides de Amaryllidaceae (AA) e suas ações. O número em negrito na primeira coluna corresponde ao número atribuído à sua estrutura química correspondente representada na Figura 7.	26
Tabela 2	Distribuição das espécies de plantas do gênero <i>Zephyranthes</i> ocorrentes no mundo.	30
Tabela 3	Espécies do gênero <i>Zephyranthes</i> distribuídas no Brasil.	33
Tabela 4	Material vegetal utilizado nos procedimentos.	55
Tabela 5	Rendimento dos extratos e frações.	67
Tabela 6	Rendimento das frações alcaloídicas obtidas a partir dos extratos etanólicos das folhas, bulbos e raízes de <i>Zephyranthes irwiniana</i> .	69
Tabela 7	Composição química das frações alcaloídicas nas partes aéreas de espécies de <i>Zephyranthes irwiniana</i> , após análise de CG-EM.	76
Tabela 8	Compostos identificados em extrato hexânico e frações de <i>Zephyranthes irwiniana</i>	85
Tabela 9	Atividade inibitória de acetilcolinesterase por extratos etanólicos de <i>Zephyranthes irwiniana</i> .	91
Tabela 10	Avaliação da capacidade de extratos etanólicos de <i>Zephyranthes irwiniana</i> em sequestrar o radical DPPH [•]	93

ABREVIATURAS, SIMBOLOS E ACRÔNIMOS

AAs	Alcaloides de Amaryllidaceae
ACh	Acetilcolina
AChE	Acetilcolinesterase
Anvisa	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BuChE	Butirilcolinesterase
CCD	Cromatografia em camada delgada
CE ₅₀	Concentração eficaz média
CG-DIC	Cromatografia Gasosa com Detector de Ionização de Chama
CG-EM	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
Ch	Colina
ChAT	Colina Acetiltransferase
ChE-Is	Inibidores das colinesterases
CI ₅₀	Concentração inibitória média
DA	Doença de Alzheimer
DMSO	Dimetilsulfóxido
DPPH [•]	2,2- difenil-1-picril-hidrazila
DTNB	Ácido 5,5-ditiobis-2-benzoico
EE	Extrato etanólico
EH	Extrato hexânico
EMA	<i>European Medicines Agency</i>
EUA	Estados Unidos da América
FA	Fração aquosa
FAAE	Fração alcaloídica acetato de etila
FAAEM	Fração alcaloídica acetato de etila-metanol
FAE	Fração acetato de etila
FAEF	Fração acetato de etila da fase líquida
FAH	Fração alcaloídica hexânica
FDA	Food and Drug Administration
FRAP	<i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>
IR	Índice de Retenção
LA	Lavado ácido
LD	Limite de detecção

MMA	Ministério do Meio Ambiente
MeOH	Metanol
M pro	Protease principal do vírus SARS-CoV-2
m/z	Relação massa/carga
NH ₄ OH	Hidróxido de amônio
NIST	<i>National Institute of Standards and Technology</i>
NMDA	N-metil-D-Aspartato
OMS	Organização Mundial da Saúde
PBS	Tampão fosfato salino
pH	Potencial hidrogeniônico
POP	Prolil oligopeptidase
SARS-CoV-2	Vírus da família dos coronavírus
TIC	<i>Total ion current</i>
TMPRSS2	Protease serina transmembrana 2
TMS	Tetrametilsilano
TPTZ	2,4,6-tripiridil-S-triazina
UB	Herbário da Universidade de Brasília
UnB	Universidade de Brasília
UV	Ultravioleta
VU	Vulnerável
δ	Deslocamento químico

1. INTRODUÇÃO

1.1 Produtos naturais e a biodiversidade dos biomas brasileiros

Nos últimos anos, o interesse pelo uso de produtos naturais em tratamentos de saúde tem ganhado destaque. Esse movimento é impulsionado pela busca de alternativas mais sustentáveis e pela eficácia demonstrada em estudos preliminares. A Organização Mundial da Saúde (OMS) incentiva o uso de medicamentos derivados de plantas e sua integração aos serviços de saúde (WHO, 2023b). Vários fatores contribuem para o crescente uso de plantas medicinais, como o acesso limitado da população à assistência médica, os efeitos colaterais dos medicamentos convencionais, a resistência microbiana e a tendência global de buscar uma conexão com a natureza. Assim, as pesquisas com produtos naturais desempenham um papel cada vez mais significativo e relevante (MACIEL et al., 2002; DAVID et al., 2015; JIN et al., 2023, WHO, 2023b).

A descoberta de fármacos pode advir de estudos desenvolvidos a partir da crença e cultura popular, havendo, no Brasil, grande capacidade de empregar a pesquisa científica na rica biodiversidade (BRASIL, 2020). O uso de produtos naturais, especialmente oriundos de espécies vegetais, para fins terapêuticos é tão antigo e universal quanto a própria medicina. O aproveitamento dos recursos naturais por nossos antepassados proporcionou condições para o descobrimento de compostos que constituem fármacos empregados pela sociedade moderna em diversas áreas terapêuticas (VIEGAS et al., 2006; ATANASOV et al. 2021, WHO, 2023b).

A biodiversidade brasileira oferece um potencial inexplorado para o desenvolvimento de novos medicamentos. Neste contexto, destacam-se os estudos sobre as plantas da flora brasileira, suas propriedades farmacológicas e os constituintes químicos que promovem atividade biológica. Essas pesquisas têm como objetivo identificar novas substâncias e princípios ativos para fins terapêuticos, que possam ser utilizados na síntese de compostos medicinais, reforçando o potencial do Brasil nessa área. Vale ressaltar que cerca de 20% da biodiversidade de plantas do mundo encontra-se no território brasileiro, e aproximadamente 60% dos fármacos clinicamente aprovados derivam de produtos naturais, destacando-os como uma fonte crucial para a descoberta de novos medicamentos (GARCEZ et al., 2016; MACÊDO et al., 2018; MENEZES-BARRA et al., 2018; JIN et al., 2023).

Esse contexto de rica biodiversidade no Brasil reflete a extensão territorial e ecológica do país. O Brasil, quinto maior país em território, ocupa quase metade da América do Sul e abrange várias zonas climáticas. Devido à diversidade de biomas, flora e fauna, é considerado um dos países com maior biodiversidade do planeta. Seu território é subdividido em seis biomas principais: Amazônia, Cerrado, Caatinga, Mata Atlântica, Pantanal e Pampa (GARCEZ et al., 2016; BARRA et al., 2021).

Dentre os biomas brasileiros, o Cerrado destaca-se por sua relevância ecológica e pelos desafios enfrentados. Esse vasto bioma, caracterizado por savanas tropicais, ocupa cerca de 200 milhões de hectares e desempenha um papel hídrico crucial no Brasil (LEWIS et al., 2022; PEREIRA e FERNANDES, 2022). As condições sazonais de temperatura influenciam sua extensão, e mudanças nesses padrões podem impactar significativamente o potencial germinativo das espécies nativas, prejudicando a regeneração da vegetação e causando perdas irreparáveis (BORGHETTI et al., 2021). Embora o Cerrado seja um dos biomas mais diversos do mundo, ele enfrenta desmatamento acelerado devido à expansão agrícola (FRANÇOSO et al., 2020).

Os impactos ambientais no Cerrado refletem um problema mais amplo que afeta biomas em todo o mundo. As savanas tropicais, incluindo o Cerrado, estão entre os biomas mais afetados pela supressão da vegetação nativa, tornando-se mais quentes e secas devido à destruição de habitat (HOFMANN et al., 2021).

Entre as plantas de interesse medicinal do Cerrado, destacam-se as da família Amaryllidaceae, valorizadas também por suas propriedades ornamentais devido às suas belas flores (KA et al., 2020; KONG et al., 2021; AY et al., 2023). Como ilustrado na Figura 1, essas espécies são predominantes na América do Sul andina, na bacia do Mediterrâneo e no sul da África. Entretanto, conforme Dewes Neto et al. (2024), algumas espécies dessa família possuem baixa representatividade, apresentam taxas de multiplicação reduzidas e estão em situação de vulnerabilidade ou risco de extinção.

Uma dessas espécies, *Zephyranthes irwiniana* (Ravenna) Nic. García, endêmica do Cerrado brasileiro, está classificada como vulnerável à ameaça de extinção (BRASIL, 2022). Até o momento, poucos estudos avaliaram as propriedades biológicas dessa espécie. Não há registros de seu uso tradicional ou medicinal no Brasil, tampouco estudos sobre sua propagação em condições controladas ou análises fitoquímicas.

Os principais metabólitos secundários sintetizados por Amaryllidaceae são alcaloides, que se acumulam, principalmente, nos seus bulbos (MASI et al., 2020). Um exemplo notável é a galantamina, extraída de *Galanthus woronowii* Losinsk, conhecida por suas propriedades medicinais (HULCOVÁ et al., 2018; ZARAGOZA-PUCHOL et al., 2021; KONG et al., 2021; GOMES-COPELAND et al., 2022). A galantamina é prescrita para o controle da Doença de Alzheimer (MAMBRO; SOUZA; SILVA, 2022).

Figura 1: Representantes da família de Amaryllidaceae: *Crinum latifolium* L. e *Zephyranthes irwiniana* (Ravenna) Nic.García.



Fonte: Fotografias cedidas pelo Prof. Dr. Christopher Fagg.

Os alcaloides devem ser avaliados de forma aprofundada para um melhor entendimento de sua natureza e dos efeitos terapêuticos que esses componentes orgânicos oferecem (PENG et al., 2023). Esses compostos orgânicos são moléculas cíclicas que contêm nitrogênio, geralmente possuem caráter básico e derivam de aminoácidos em organismos vivos (BERKOV et al., 2022). Até o momento, foram identificados mais de 650 tipos de alcaloides de Amaryllidaceae (AA), dos quais cerca de 15% foram descobertos entre 2015 e 2020, o que evidencia o crescente interesse por esses compostos (KA et al., 2020). Esse número foi confirmado por estudos recentes realizados por Hong et al. (2022) e Le et al. (2023).

Os AA possuem uma vasta gama de ações farmacológicas, incluindo atividade antitumoral, antiviral, antibacteriana, antifúngica, antimalárica, inibição da acetilcolinesterase (AChE), além de propriedades analgésicas, ansiolíticas e

neuroprotetoras (PAIVA, 2019). Esses fatores sustentam o foco científico no estudo dessa significativa família botânica.

1.2 Família Amaryllidaceae e sua distribuição

A família Amaryllidaceae J. St.-Hil. está amplamente distribuída em regiões subtropicais e tropicais (BARRA et al., 2021; CAHLÍKOVÁ et al., 2021). Ela compreende cerca de 85 gêneros e 2.000 espécies, distribuídas globalmente (NICHIO-AMARAL et al., 2020; KONG et al., 2021; GOMES et al., 2022; WFO, 2024). É considerada uma das famílias mais importantes de plantas herbáceas, perenes e bulbosas, com algumas espécies apresentando rizomas em vez de bulbos. Amaryllidaceae pertence à classe Liliopsida, da ordem Asparagales, no grupo das monocotiledôneas (KA et al., 2020; BARRA et al., 2021; KONG et al., 2021).

A classificação taxonômica atual das Amaryllidaceae é estruturada em três subfamílias: Agapanthoideae Endl., Allioideae Herb. e Amaryllidoideae Burnett (JIN; YAO, 2019).

No Brasil, a família Amaryllidaceae compreende 19 gêneros e 157 espécies (alguns exemplos são apresentados na Figura 2). Essas espécies ocupam diversos habitats, como ambientes aquáticos, epifíticos, rupícolas ou terrestres (REFLORA – FLORA E FUNGA DO BRASIL, 2024). Contudo, algumas apresentam distribuição geográfica restrita (Figura 3), com poucas populações, sendo consideradas vulneráveis.

Espécies rupestres, associadas a diferentes tipos de rochas como graníticas, areníticas, calcárias e canga hematítica, estão particularmente ameaçadas devido às atividades mineradoras, pedreiras, drenagem de brejos e modificações nas margens de rios. Além disso, práticas como a criação de animais e outras intervenções humanas que alteram a cobertura do solo nas áreas de ocorrência natural dessas plantas levaram à eliminação de várias populações brasileiras da família Amaryllidaceae (MARTINELLI & MORAES, 2013; ZARAGOZA-PUCHOL et al., 2021; REFLORA – FLORA E FUNGA DO BRASIL, 2024).

A Lista Nacional Oficial de Espécies da Flora Ameaçadas de Extinção (BRASIL, 2022) alerta para os danos dessa exploração predatória. Entre os exemplos citados estão espécies como *Zephyranthes irwiniana* (Ravenna) Nic.García, *Hippeastrum brasilianum* (Traub & J.L.Doran) Dutilh e *Hippeastrum reginae* (L.) Herb., atualmente classificadas como em risco de extinção. Portanto, a avaliação, conservação e

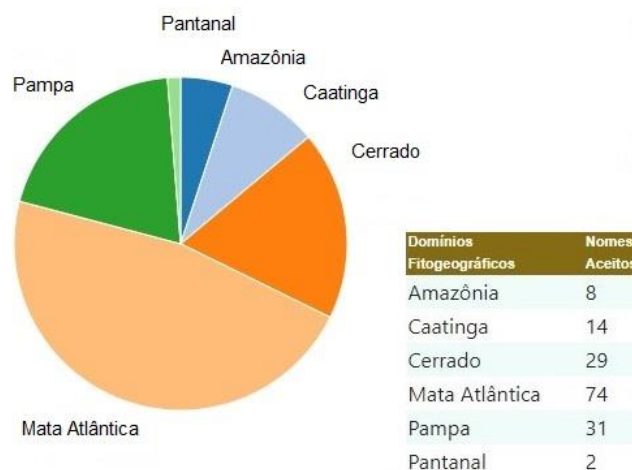
proteção de plantas nativas e endêmicas são essenciais para preservar a biodiversidade e garantir o uso sustentável desses recursos naturais.

Figura 2. Variedade de espécies de Amaryllidaceae: *Hippeastrum stapfianum* (Kraenzl.) R.S.Oliveira & Dutilh, *Zephyranthes irwiniana* (Ravenna) Nic. García, *Crinum americanum* L.



Fonte: Fotografias cedidas pelo Prof. Dr. Christopher Fagg.

Figura 3. Distribuição de espécies de Amaryllidaceae ocorrentes no Brasil por domínio fitogeográfico.



Fonte: Re flora – Flora e Funga do Brasil, 2024.

No sentido de demonstrar o valor das Amaryllidaceae, é fundamental ressaltar a contribuição da ciência e tecnologia para sua otimização. Segundo Ay et al. (2023), a genética das plantas, aliada a fatores como períodos de crescimento, condições

ambientais e técnicas de cultivo, influencia significativamente a composição e a concentração de compostos bioativos. Nesse contexto, técnicas como melhoramento genético, germinação *in vitro* e micropropagação revelam-se essenciais para a domesticação das Amaryllidaceae (ZARAGOZA-PUCHOL et al., 2021; GOMES-COPELAND et al., 2022). Além disso, essas práticas podem ampliar a eficácia no desenvolvimento vegetativo, aumentar a adaptação das espécies a diferentes condições ambientais, melhorar a resistência a pragas e, crucialmente, intensificar a produção de alcaloides (AY et al., 2023).

Espécies da família Amaryllidaceae têm sido utilizadas na fitoterapia há vários séculos, enquanto os alcaloides presentes em seus extratos vêm sendo investigados quimicamente há cerca de 200 anos (DEWES NETO et al., 2024). Assim, essas plantas despertam grande interesse devido aos compostos estruturalmente únicos que demonstram significativa atividade biológica, conforme evidenciado por pesquisas anteriores (CAHLÍKOVÁ et al., 2021).

1.3 Classificação dos alcaloides de Amaryllidaceae

O metabolismo vegetal compreende dois tipos principais de substâncias: os metabólitos primários e os metabólitos secundários. Os metabólitos primários são essenciais para as funções básicas da vida celular, como crescimento, desenvolvimento e reprodução (SÁ FILHO et al., 2021). Eles incluem compostos como açúcares, proteínas, aminoácidos e ácidos nucleicos, sendo produzidos em todas as células dos seres vivos (HERMES, 2022). Sua produção está diretamente ligada às atividades metabólicas primárias que sustentam a vida e a saúde das plantas, destacando seu papel central no metabolismo vegetal (CORREIA et al., 2023).

Por outro lado, os metabólitos secundários são específicos de cada espécie, desempenhando papéis cruciais na adaptação das plantas ao estresse ambiental e na defesa contra predadores e patógenos (HERMES, 2022). Esses compostos também participam de interações intra- e intercelulares, atuam no processo de polinização, atraem agentes polinizadores e contribuem para a resistência a pragas e doenças (SÁ FILHO et al., 2021). Produzidos em diferentes partes das plantas, como raízes, caules, folhas, sementes e flores, os metabólitos secundários apresentam uma ampla diversidade de estruturas e funções. Eles são foco de estudos devido aos seus potenciais efeitos biológicos, além de valores nutricionais e farmacológicos (CORREIA et al., 2023). A investigação desses compostos é essencial para compreender seu

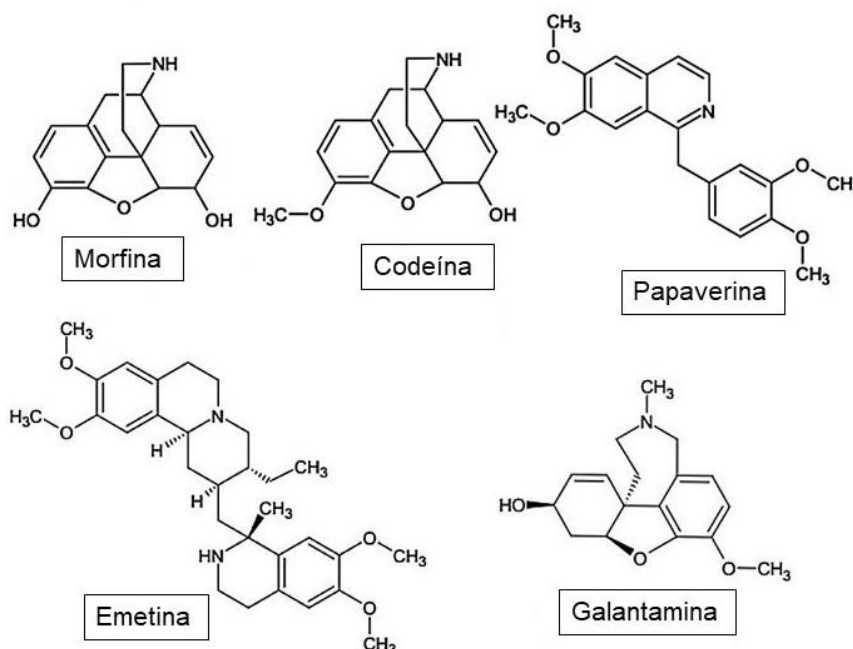
papel na ecologia das plantas e suas aplicações potenciais em áreas como medicina e agricultura (SÁ FILHO et al., 2021).

O químico alemão Meissner introduziu o termo "alcaloide" em 1819, com o significado de "como álcalis". Inicialmente, o termo foi utilizado para designar todos os compostos orgânicos básicos provenientes de fontes animais e vegetais (FERREIRA et al., 2022). Os alcaloides são um grupo amplo e variado de metabólitos, caracterizados pela presença de pelo menos um átomo de nitrogênio, que pode estar localizado em um anel heterocíclico ou fora dele, dependendo do tipo específico de alcaloide. Geralmente, são sólidos cristalinos, incolores, de baixo peso molecular e apresentam ponto de fusão definido (RIBEIRO, 2022).

Do ponto de vista da fitoquímica, as espécies pertencentes à família Amaryllidaceae produzem um grupo exclusivo de alcaloides com arranjos de esqueleto isoquinolínico específico (DE ANDRADE et al., 2012; NAIR; VAN STADEN, 2021a). Dentre os grupos de alcaloides encontrados nas plantas, os alcaloides isoquinolínicos se destacam como o maior grupo (NAIR; VAN STADEN, 2021a).

Segundo Simões et al. (2017), os alcaloides com esqueleto isoquinolínico formam um grupo extremamente diverso, geralmente originado da dopamina por meio de uma reação de adição de base de Schiff com diferentes aldeídos. Atualmente, cerca de 4.000 substâncias dessa estrutura são conhecidas. Entre os alcaloides de notável aplicação médica encontrados nesse grupo destacam-se compostos como morfina, codeína, papaverina, galantamina e emetina (Figura 4). Entre esses, a galantamina destaca-se por sua aplicação no tratamento de condições neurológicas desafiadoras na medicina moderna.

Figura 4: Estrutura molecular de alguns alcaloides isoquinolínicos de interesse terapêutico.



Os alcaloides da família Amaryllidaceae são classificados com base em suas características químicas específicas (NAIR; VAN STADEN, 2021; JIN; YAO, 2019). Embora apresentem estruturas variadas, a ampla gama de AA é agrupada em uma única categoria por compartilharem uma via inicial comum de síntese. Segundo Jin e Yao (2019), diversos AA foram classificados com base em seus esqueletos moleculares e na estrutura de seus anéis.

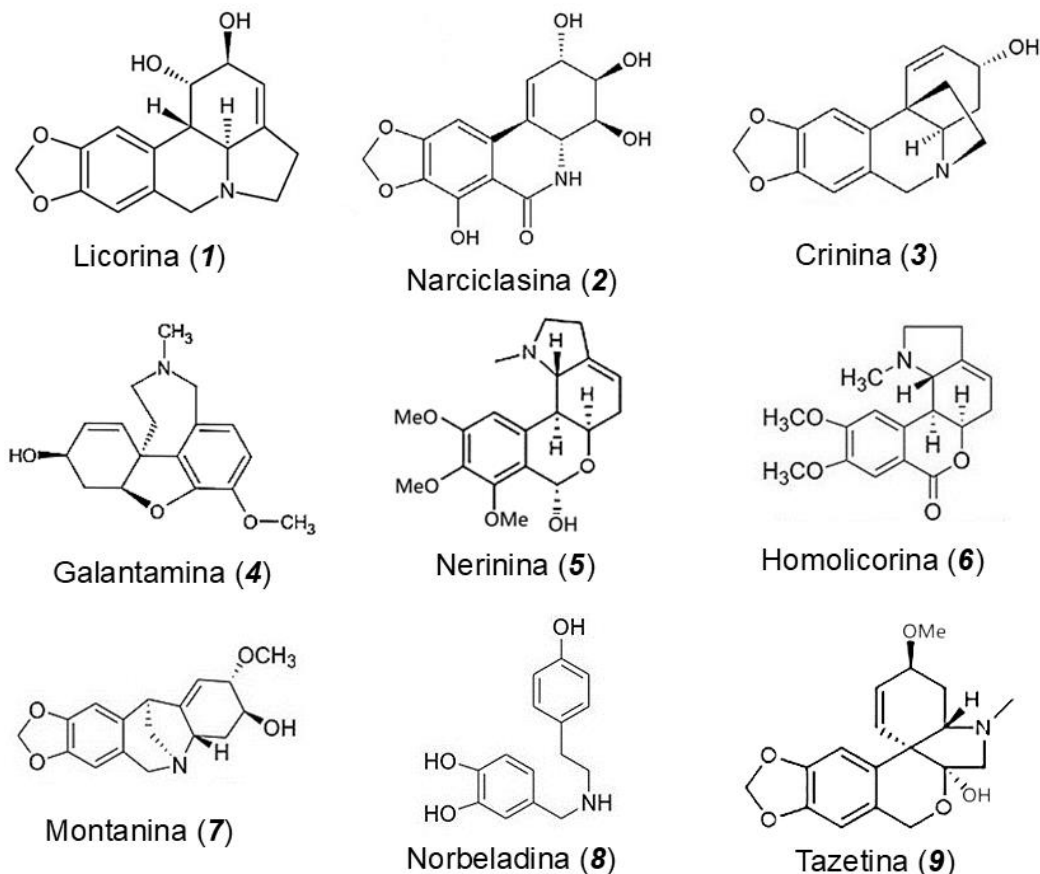
Licorina (**1**), o primeiro alcaloide isolado de plantas da família Amaryllidaceae, tem sido extensivamente investigado por sua atividade citotóxica, demonstrando eficácia na redução do crescimento de diversos tipos de células tumorais, tanto *in vitro* quanto *in vivo*. Seu mecanismo de ação envolve a formação de um complexo com o tRNA, o que dificulta a síntese proteica ao bloquear a ligação dos aminoácidos ao ribossomo (CASTANEDA et al., 2023).

Conforme Ka et al. (2020), centenas de estruturas de alcaloides da família Amaryllidaceae foram elucidadas desde o isolamento da licorina em 1877. Inicialmente chamada de narcissina, a licorina (**1**) foi isolada a partir de *Narcissus pseudonarcissus* e, posteriormente, em 1897, a partir de *Lycoris radiata*.

Na Figura 5, estão representadas as nove estruturas químicas dos principais tipos de AA: licorina (**1**), narciclasina (**2**), crinina (**3**), galantamina (**4**), nerinina (**5**),

homolicorina (6), montanina (7), norbeladina (8) e tazetina (9). KA et al. (2020) propuseram a classificação dessas estruturas químicas segundo sua origem biossintética e o tipo de anel molecular. De acordo com Trujillo et al. (2023), além da diversidade estrutural dos AA, existe um grupo ainda mais variado que se destaca por sua origem bioquímica peculiar.

Figura 5. Esqueletos básicos de alcaloides de Amaryllidaceae.



Fonte: Adaptado de Ka; Koirala; Méridol; Desgagné-Penix (2020).

Dentre os alcaloides de Amaryllidaceae, várias moléculas têm se mostrado potencialmente úteis no tratamento de doenças neurodegenerativas, como Alzheimer, Parkinson e esclerose múltipla (HULCOVÁ et al., 2018). Esses alcaloides são exclusivamente produzidos por plantas da família Amaryllidaceae (BARRA et al., 2021; NAIR; VAN STADEN, 2021; GOMES et al., 2022; CASTANEDA et al., 2023).

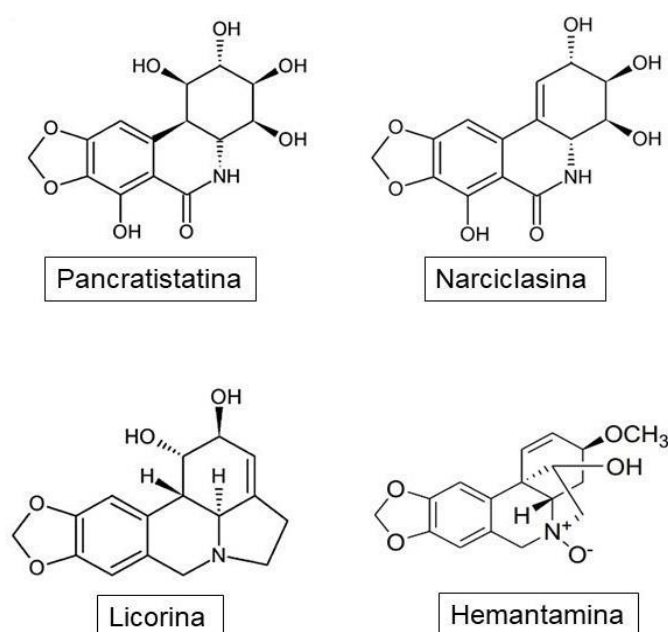
A galantamina (4), por exemplo, é amplamente utilizada no tratamento da doença de Alzheimer (BERKOV et al., 2021). Inicialmente descoberta em espécies do gênero *Galanthus* e posteriormente em bulbos de narcisos e lírios, essa substância era tradicionalmente empregada na medicina popular do Sudeste da Europa e do

Sudoeste da Ásia para aliviar dores de cabeça. As pesquisas científicas sobre a galantamina tiveram início na década de 1950, na região do Cáucaso, onde foi identificada como um eficaz inibidor da enzima acetilcolinesterase (KONG et al., 2021). Na década de 1990, estudos adicionais confirmaram sua eficácia contra a doença de Alzheimer. Sua popularidade cresceu significativamente após a síntese total realizada por Ulrich Jordis, na Universidade de Viena, em 1994, consolidando-a como um dos principais fármacos na terapia dessa enfermidade (SIMÕES et al., 2017).

Outros alcaloides da família Amaryllidaceae, como pancratistatina, narciclasina, licorina e hemantamina (Figura 6), exibem notáveis propriedades anticancerígenas em linhagens celulares específicas. Alguns desses compostos atuam em diversos estágios do processo de desenvolvimento tumoral e apresentam grande potencial como futuros candidatos a fármacos clínicos. Há perspectivas de que um deles seja comercializado como medicamento na próxima década (HULCOVÁ et al., 2018).

Recentemente, esses alcaloides foram isolados e testados como agentes antiproliferativos em diferentes tipos de câncer, demonstrando alta eficácia em modelos experimentais (TRUJILLO et al., 2023).

Figura 6. Estrutura molecular de alcaloides (Amaryllidaceae) com propriedades anticancerígenas (HULCOVÁ et al., 2018).

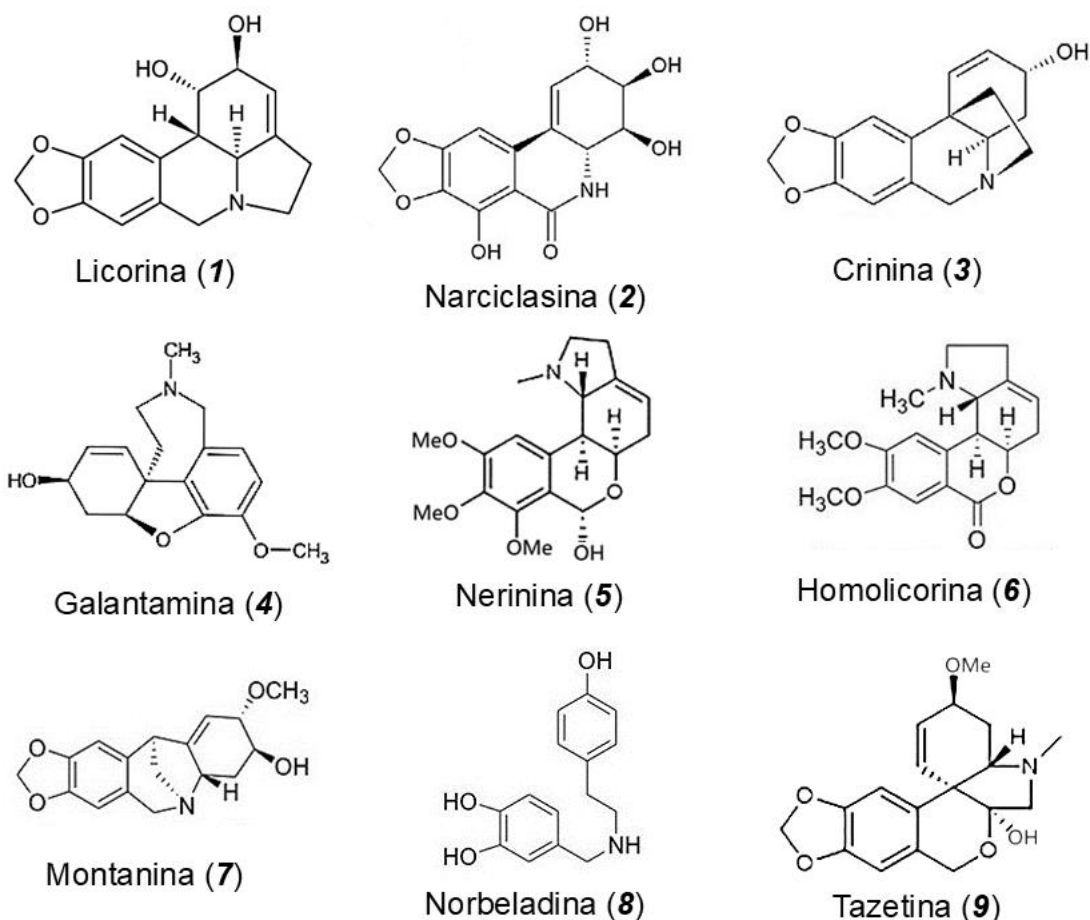


Na Tabela 1 estão listados exemplos mais relevantes dos AA considerando a atividade farmacológica (CORTES et al., 2017).

Tabela 1. Principais estruturas químicas de alcaloides de Amaryllidaceae (AA) e suas ações. O número em negrito na primeira coluna corresponde ao número atribuído à sua estrutura química correspondente representada na Figura 7.

Alcaloide	Ação	Referencias
Licorina (1)	Citotóxico	CASTANEDA et al., 2023 NAIR; VAN STADEN, 2021b KA et al., 2020
Licorina (1) e Narciclasina (2)	Antifúngicos	NAIR; VAN STADEN, 2020
Narciclasina (2)	Citotóxico	HULCOVÁ et al., 2018
Licorina (1) e Crinina (3)	Neuroprotetor	CORTES et al., 2017
Crinina (3)	Anti-inflamatório Citotóxico	CHEN et al., 2018 KA et al., 2020
Galantamina (4)	Inibidor da acetilcolinesterase	BERKOV et al, 2021
Licorina (1) e Galantamina (4)	Inibidor da acetilcolinesterase	CORTES et al., 2017
Nerinina (5)	Inibidor da acetilcolinesterase	KOHELOVÁ et al., 2021
Homolicorina (6)	Antiproliferativo	NAIR; VAN STADEN, 2021b
Montanina (7)	Antiparasitária, antitumoral e anticolinesterasica	KOUTOVÁ et al., 2020
Norbeladina (8)	Citotóxico	KA et al., 2020
Tazetina (9)	Hipotensivo	KOHELOVÁ et al., 2021

Figura 7. Estruturas de alguns alcaloides de Amaryllidaceae.



1.4 Biossíntese dos alcaloides da família Amaryllidaceae

Alcaloides de Amaryllidaceae são bases fracas e contêm um átomo de nitrogênio, que pode ser secundário, terciário ou quaternário. A estrutura cíclica básica dos AA, composta pelo arranjo C₆–C₁ e C₆–C₂–N, é derivada dos aminoácidos L-fenilalanina e L-tirosina, que são os compostos iniciais da biossíntese. Inicialmente, ocorre a preparação enzimática dos precursores. A L-fenilalanina é modificada pela enzima fenilalanina-liase (PAL), resultando em ácido trans-cinâmico. Em seguida, ocorrem dois passos de hidroxilação, resultando na perda de dois átomos de carbono e formando o 3,4-dihidroxibenzaldeído (3,4-DHBA). Simultaneamente, a L-tirosina é descarboxilada pela tirosina-decarboxilase (TYDC) para formar tiramina. A partir da tiramina e do 3,4-DHBA, forma-se o intermediário norbeladina (**8**), que dá nome a essa via biossintética. Quando o anel A (C₆C₁) da norbeladina sofre metilação (O-metilnorbeladina), pode ocorrer a ligação oxidativa intramolecular, permitindo a formação de diferentes tipos estruturais de alcaloides. Dependendo do tipo de ligação,

denominadas orto-para, para-para, para-orto resultando em dezesseis tipos de estruturas básicas (BERKOV et al., 2020; KA et al., 2020; KOUTOVÁ et al., 2020; CAHLÍKOVÁ et al., 2021).

Figura 8. Esquema da biossíntese e acoplamento oxidativo intramolecular dos alcaloides da família Amaryllidaceae.

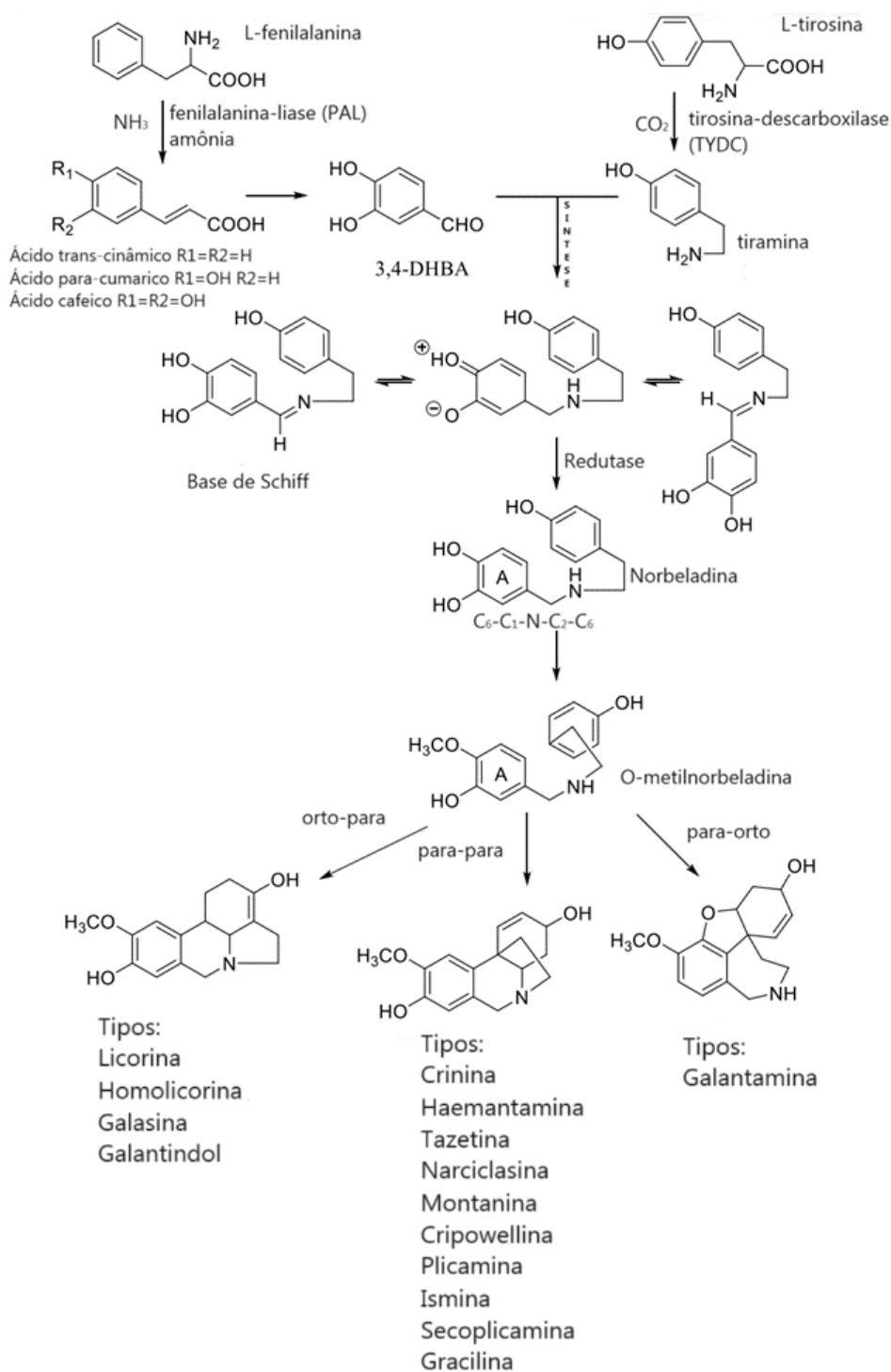


Figura adaptada de BERKOV et al., 2020 e CAHLÍKOVÁ et al., 2021.

O acoplamento orto-para resulta na formação das estruturas de alcaloides do tipo licorina, homolicorina, galasina e galantindol. Esse processo envolve a reoxidação do átomo de carbono no anel que contém o nitrogênio central, seguido pela abertura do anel, rotação intramolecular e formação de hemiacetal. Em seguida, ocorre o acoplamento para-orto resulta na formação do esqueleto do tipo galantamina. O acoplamento para-para fenólico gera os esqueletos dos tipos crinina, haemantamina, tazetina, narciclasina, montanina, cripowellina, plicamina, ismina, secoplicamina e gracilina (Figura 8) (BERKOV et al., 2020).

1.5 Gênero *Zephyranthes*

Zephyranthes é um gênero pertencente à família Amaryllidaceae, composto por 87 espécies reconhecidas (Tabela 2) (WFO, 2024), das quais 15 ocorrem no Brasil (Tabela 3) (REFLORA – FLORA E FUNGA DO BRASIL, 2024). Esse gênero está amplamente distribuído nas regiões Norte e Sul do continente americano, abrangendo desde a Argentina até o Sudeste dos Estados Unidos (WFO, 2024). As espécies de *Zephyranthes* são encontradas em habitats subtropicais e temperados, muitas vezes em altitudes elevadas (MEEROW; SNIJMAN, 1998; AMARAL, 2007; AMARAL-LOPES; CAVALCANTI, 2015; KATOCH; SINGH, 2015; GARCÍA et al., 2019; KOHELOVÁ et al., 2021).

As espécies de *Zephyranthes* são popularmente conhecidas como "lírios de chuva", devido à sua floração coincidir com o início das chuvas (ALVES-ARAÚJO et al., 2012; KOHELOVÁ et al., 2021). Assim como outras Amaryllidaceae, o gênero *Zephyranthes* possui relevância econômica por suas propriedades farmacológicas e uso ornamental, dada a exuberância de suas flores (AMARAL-LOPES; CAVALCANTI, 2015; ZARAGOZA-PUCHOL et al., 2021). As plantas do gênero apresentam bulbos, flores e folhas com variações em tamanho e cor (WFO, 2024).

Zephyranthes possuem folhas anuais, lineares ou filiformes, podendo ser canaliculadas ou planas, algumas vezes carnudas, variando em vários tons de verde. O escapo é oco e cilíndrico; a inflorescência pode apresentar de uma a cinco flores, sendo as brácteas geralmente fundidas, formando um tubo com ápice bifido ou único. As flores, em forma de funil, podem ser eretas ou declinadas, infundibuliformes ou crateriformes, e variam de zigomorfas a quase actinomorfas.

A coloração das flores inclui tons de rosa, branco e amarelo, sendo possível encontrar variações em vermelho e laranja. Algumas espécies apresentam flores

perfumadas durante a floração. A presença de uma coroa com escamas pequenas ou fímbrias é ocasional; as tépalas costumam ser elípticas, ovais ou espatuladas. Os estames podem ser eretos ou declinado-ascendentes, com filetes filiformes em alturas variadas, enquanto as anteras assumem formas oblongas ou semelhantes a meia-lua.

O estilete é filiforme, com estigma trifido ou trilobado, enquanto as sementes são achatadas. O bulbo, de formato globoso ou ovoide, possui uma superfície marrom ou preta e é dotado de raízes contráteis. A altura das plantas varia de 4 a 50 cm, e elas podem florescer diversas vezes por temporada (REFLORA – FLORA E FUNGA DO BRASIL, 2024).

De acordo com Pereira et al. (2022), as espécies do gênero *Zephyranthes* são vulneráveis à exploração comercial realizada por meio da coleta extrativista direta na natureza. Essa prática antiecológica aumenta o risco de extinção dessas plantas, especialmente aquelas já classificadas como em risco iminente.

Tabela 2. Distribuição das espécies de plantas do gênero *Zephyranthes* ocorrentes no mundo.

Espécies	País
<i>Zephyranthes albiella</i> Traub	Colômbia
<i>Zephyranthes albolilacinus</i> Cárdenas	Equador
	Bolívia
<i>Zephyranthes americana</i> (Hoffmanns.) Ravenna	Argentina
	Brasil
	Uruguai
<i>Zephyranthes amoena</i> Ravenna	Brasil
<i>Zephyranthes andina</i> (R.E.Fr.) Traub	Argentina
	Bolívia
	Peru
<i>Zephyranthes atamasco</i> (L.) Herb.	EUA
<i>Zephyranthes bella</i> T.M.Howard & S.Ogden	México
<i>Zephyranthes bifida</i> (Herb.) Nic. García & Meerow	Brasil
<i>Zephyranthes bifolia</i> (Aubl.) M.Roem.	Haiti
	República Dominicana
<i>Zephyranthes blumenavia</i> (K.Koch & C.D.Bouché ex Carrière) Nic.García & Dutilh	Brasil
<i>Zephyranthes botumirimensis</i> (R.S.Oliveira) R.S.Oliveira & Dutilh	Brasil
<i>Zephyranthes brachyandra</i> (Baker) Backer	Brasil
<i>Zephyranthes brevipes</i> Standl.	México
<i>Zephyranthes breviscapa</i> Ravenna	Bolívia
<i>Zephyranthes briquetii</i> J.F.Macbr.	Peru
<i>Zephyranthes candida</i> (Lindl.) Herb.	Brasil
	Paraguai
	Uruguai
<i>Zephyranthes capivarina</i> Ravenna	Brasil
<i>Zephyranthes cardinalis</i> C.H.Wright	Bahamas
<i>Zephyranthes carinata</i> Herb.	Colômbia
	Costa Rica
	Guatemala
	Honduras
	México
	Nicarágua

<i>Zephyranthes cearensis</i> Baker	Brasil
<i>Zephyranthes chlorosolen</i> D.Dietr.	EUA México
<i>Zephyranthes chrysantha</i> Greenm. & C.H.Thomps.	EUA México
<i>Zephyranthes ciceroana</i> R.G.García	República Dominicana
<i>Zephyranthes citrina</i> Baker	Cuba Haiti Honduras México Panamá
<i>Zephyranthes clintiae</i> Traub	México
<i>Zephyranthes comunelloi</i> R.E.Bastian & Büneker	Brasil
<i>Zephyranthes concolor</i> Benth. & Hook.f.	México
<i>Zephyranthes crociflora</i> T.M.Howard & S.Ogden	México
<i>Zephyranthes cubensis</i> Urb.	Cuba
<i>Zephyranthes depauperata</i> Herb.	Chile
<i>Zephyranthes dichromantha</i> T.M.Howard	México
<i>Zephyranthes diluta</i> Ravenna	Argentina
<i>Zephyranthes drummondii</i> D.Don	EUA México
<i>Zephyranthes elegans</i> Ravenna	Bolivia
<i>Zephyranthes erubescens</i> S.Watson	México
<i>Zephyranthes filifolia</i> Kraenzl.	Argentina Paraguay Uruguay
<i>Zephyranthes flavissima</i> Ravenna	Argentina Brasil
<i>Zephyranthes fluvialis</i> Ravenna	Argentina Brasil
<i>Zephyranthes fosteri</i> Traub	México
<i>Zephyranthes gracilis</i> Herb.	Peru
<i>Zephyranthes gratissima</i> Ravenna	Brasil
<i>Zephyranthes guatemalensis</i> L.B.Spencer	Guatemala
<i>Zephyranthes hondurensis</i> Ravenna	Guatemala Honduras
<i>Zephyranthes howardii</i> Traub	México
<i>Zephyranthes insularum</i> H.H.Hume ex Moldenke	Cuba
<i>Zephyranthes irwiniana</i> (Ravena) Nic.Garcia	Brasil
<i>Zephyranthes jonesii</i> (Cory) Traub	EUA
<i>Zephyranthes katherinae</i> L.B.Spencer	México
<i>Zephyranthes lagesiana</i> Ravenna	Brasil
<i>Zephyranthes latissimifolia</i> L.B.Spencer	México
<i>Zephyranthes leucantha</i> T.M.Howard	México
<i>Zephyranthes lindleyana</i> Herb.	Belize Honduras México Nicaragua
<i>Zephyranthes longistyla</i> Pax	Argentina
<i>Zephyranthes longituba</i> Flory ex Flagg & G.Lom.Sm.	México
<i>Zephyranthes macrosiphon</i> Baker	México
<i>Zephyranthes mesochloa</i> Herb.	Argentina Brasil Paraguay Uruguay
<i>Zephyranthes microstigma</i> Ravenna	Brasil
<i>Zephyranthes minima</i> Herb.	Argentina Brasil Uruguay
<i>Zephyranthes minuta</i> (Kunth) D.Dietr.	Guatemala México
<i>Zephyranthes miradorensis</i> (Kraenzl.) Espejo & López-Ferr.	México
<i>Zephyranthes moctezumae</i> T.M.Howard	México
<i>Zephyranthes modesta</i> Ravenna	Argentina
<i>Zephyranthes morrisclintii</i> Traub & T.M.Howard	México

<i>Zephyranthes nelsonii</i> Greenm.	México
<i>Zephyranthes nervosa</i> Herb.	México
<i>Zephyranthes nympheae</i> T.M.Howard & S.Ogden	México
<i>Zephyranthes orellanae</i> Carnevali, Duno & J.L.Tapia	México
<i>Zephyranthes paranaensis</i> Ravenna	Brasil
<i>Zephyranthes plumieri</i> Hume ex Moldenke	República Dominicana
<i>Zephyranthes primulina</i> T.M.Howard & S.Ogden	México
<i>Zephyranthes proctorii</i> Acev.-Rodr. & M.T.Strong	Porto Rico
<i>Zephyranthes puertoricensis</i> Traub	Bahamas
	Colômbia
	Jamaica
	Panamá
	Porto Rico
	República Dominicana
	Suriname
	Trindade e Tobago
	Venezuela
<i>Zephyranthes pulchella</i> J.G.Sm.	EUA
	México
<i>Zephyranthes purpurella</i> Ravenna	Brasil
<i>Zephyranthes refugiensis</i> F.B.Jones	EUA
<i>Zephyranthes reginae</i> T.M.Howard & S.Ogden	México
<i>Zephyranthes rosalensis</i> Ravenna	Bolívia
<i>Zephyranthes rosea</i> Lindl.	Colômbia
	Peru
<i>Zephyranthes sessilis</i> Herb.	México
<i>Zephyranthes simpsonii</i> Chapm.	EUA
<i>Zephyranthes smallii</i> (Alexander) Traub	EUA
<i>Zephyranthes stellaris</i> Ravenna	Argentina
	Brasil
	Paraguai
<i>Zephyranthes stellatorosea</i> G.Lom.Sm., Spurrier, Flagg & Espejo	México
<i>Zephyranthes subflava</i> L.B.Spencer	México
<i>Zephyranthes susatana</i> Fern.Alonso & Groenend.	Colômbia
<i>Zephyranthes traubii</i> (Hayward) Moldenke	EUA
	México
<i>Zephyranthes treatiae</i> S.Watson	EUA
<i>Zephyranthes tucumanensis</i> Hunz.	Argentina
<i>Zephyranthes uruguaiensis</i> Ravenna	Brasil
<i>Zephyranthes versicolor</i> G.Nicholson	Uruguai
<i>Zephyranthes wrightii</i> Baker	Cuba
<i>Zephyranthes yaviensis</i> Ravenna	Argentina

Fonte: Re flora – Flora e Funga do Brasil, 2024; The World Flora Online, 2024.

O gênero *Zephyranthes* tem sido empregado na medicina tradicional de diversas nações. No Peru, *Z. parulla* foi empregada no tratamento de câncer, enquanto na China, *Z. rosea* foi utilizada na terapia de câncer de mama. Na África, os nativos usavam folhas de *Z. candida* para tratar diabetes mellitus, e na Índia, extratos dos bulbos de *Z. rosea* e *Z. flava* foram aplicados no tratamento de diabetes e infecções virais (KATOCH; SINGH, 2015; KOHELOVÁ et al., 2021; YANG et al., 2022).

De acordo com Reyes-Chilpa et al. (2011) dez espécies de *Zephyranthes* foram submetidas a estudos químicos, incluindo *Z. andersoniana*, *Z. candida* (Lindl.) Herb., *Z. carinata* Herb., *Z. citrina* Baker, *Z. flava* (Herb.) Baker, *Z. grandiflora* Lindl., *Z. robusta* (Herb. ex Sweet) Baker, *Z. rosea* Lindl., *Z. sulphurea* hort. e *Z. tubispatha*

(L'Hér.) Herb. A maioria dos alcaloides isolados dessas espécies pertence ao tipo licorina (**1**). *Zephyranthes candida* (Lindl.) Herb. e *Z. grandiflora* Lindl. destacaram-se pela presença de alcaloides como trans-diidronarciclasina e pancratistatina, respectivamente, com propriedades antineoplásicas.

Tabela 3. Espécies do gênero *Zephyranthes* distribuídas no Brasil.

Espécie	Endêmica	Distribuição Geográfica	Sinonímia
<i>Zephyranthes americana</i> (Hoffmanns.) Ravenna	Não	Rio Grande do Sul	<i>Haylockia americana</i> (Hoffmanns.) Herter, <i>Haylockia pusilla</i> Herb., <i>Haylockia pusilla</i> var. <i>aurea</i> Herter, <i>Haylockia pusilla</i> var. <i>cremea</i> Herter
<i>Zephyranthes amoena</i> Ravenna	Desconhecido	Paraná	Não há
<i>Zephyranthes bifida</i> (Herb.) Nic. García & Meerow	Não	Rio Grande do Sul	<i>Amaryllis bifida</i> (Herb.) Spreng. <i>Amaryllis lorifolia</i> (Herb.) Steud. <i>Habranthus angustus</i> Herb. <i>Habranthus bifidus</i> Herb. <i>Habranthus bifidus</i> var. <i>litoralis</i> Herb. <i>Habranthus intermedius</i> (Lindl.) Herb. <i>Habranthus kermesinus</i> (Lindl.) Herb. <i>Habranthus litoralis</i> M. Roem. <i>Habranthus lorifolius</i> Herb. <i>Habranthus nemoralis</i> Herb. <i>Habranthus nobilis</i> Herb. <i>Habranthus pulcher</i> Herb. <i>Habranthus spathaceus</i> Herb. <i>Habranthus spathaceus</i> var. <i>angustus</i> (Herb.) Herb. <i>Hippeastrum intermedium</i> (Lindl.) Herter <i>Hippeastrum kermesianum</i> (Lindl.) Herter <i>Hippeastrum multiflorum</i> Büneker, K. Soares & L.C. Assis <i>Hippeastrum nemorale</i> (Herb.) Herter <i>Hippeastrum platense</i> E. Holmb. <i>Hippeastrum platense</i> var. <i>angustum</i> (Herb.) E. Holmb. <i>Hippeastrum pulchrum</i> (Herb.) E. Holmb. <i>Myostemma bifida</i> (Herb.) Ravenna <i>Phycella bonariensis</i> (Kuntze) Traub <i>Phycella granatiflora</i> (E. Holmb.) Traub <i>Rhodophiala bifida</i> (Herb.) Traub <i>Rhodophiala bifida</i> subsp. <i>aemantia</i> Ravenna <i>Rhodophiala bifida</i> subsp. <i>granatiflora</i> (E. Holmb.) Ravenna <i>Rhodophiala bifida</i> subsp. <i>purpurea</i> Ravenna <i>Rhodophiala bifida</i> var. <i>pulchra</i> (Herb.) Traub <i>Rhodophiala bifida</i> var. <i>spathacea</i> (Herb.) Traub <i>Rhodophiala spathacea</i> (Herb.) Traub

<i>Zephyranthes blumenavia</i> (K.Koch & C.D.Bouché ex Carrière) Nic.García & Dutilh	Sim	Paraná São Paulo	<i>Eithea blumenavia</i> (Koch & Bouché) Ravenna
<i>Zephyranthes botumirimensis</i> (R.S.Oliveira) R.S.Oliveira & Dutilh	Sim	Minas Gerais	<i>Habranthus botumirimensis</i> R.S.Oliveira
<i>Zephyranthes brachyandra</i> (Baker) Backer	Não	Rio Grande do Sul	<i>Hippeastrum brachyandrum</i> Baker <i>Zephyranthes porphyrospila</i> Holmb. <i>Habranthus brachyandrus</i> (Baker) Sealy
<i>Zephyranthes candida</i> (Lindl.) Herb.	Não	Paraná Rio Grande do Sul Santa Catarina São Paulo	<i>Amarillis candida</i> Lindl. <i>Amaryllis nivea</i> Schult.f. <i>Argyropsis candida</i> M.Roem. <i>Atamosco candida</i> (Lindl.) Sasaki <i>Plectronema candida</i> Raf. <i>Zephyranthes nivea</i> D.Dietr.
<i>Zephyranthes capivarina</i> Ravenna	Desconhecido	Paraná	Não há
<i>Zephyranthes cearenses</i> (Herb.) Baker	Sim	Alagoas Bahia Ceará Goiás Maranhão Mato Grosso Minas Gerais Paraíba Pernambuco Piauí Rio Grande do Norte Sergipe Tocantins	<i>Aidema cearensis</i> (Herb.) Ravenna <i>Aidema matogrossensis</i> Ravenna <i>Habranthus araguaensis</i> Ravenna <i>Habranthus bahiensis</i> Ravenna <i>Habranthus cearensis</i> Herb. <i>Habranthus goianus</i> Ravenna <i>Habranthus itaobinus</i> Ravenna <i>Hippeastrum cearense</i> (Herb.) Baker <i>Hippeastrum franciscanum</i> Baker <i>Zephyranthes franciscana</i> Herb. <i>Zephyranthes goiana</i> (Ravenna) R.S. Oliveira & Dutilh
<i>Zephyranthes coerulea</i> (Griseb.) Baker	Não	Paraná Rio Grande do Sul Santa Catarina	<i>Amaryllis coerulea</i> Griseb <i>Habranthus caeruleus</i> (Griseb.) Traub. <i>Habranthus coeruleus</i> (Griseb.) Traub <i>Zephyranthes caerulea</i> (Griseb.) Baker
<i>Zephyranthes comunelloi</i> R.E.Bastian & Büneker	Sim	Rio Grande do Sul	Não há
<i>Zephyranthes concinna</i> (Ravenna) R.S.Oliveira & Dutilh	Sim	Paraná	<i>Habranthus concinnus</i> Ravenna
<i>Zephyranthes flavissima</i> Ravenna	Desconhecido	Paraná Rio Grande do Sul Santa Catarina	Não há
<i>Zephyranthes fluvialis</i> Ravenna	Não	Paraná Rio Grande do Sul Santa Catarina	Não há
<i>Zephyranthes gameleirensis</i> (Ravenna) R.S.Oliveira & Dutilh	Sim	Minas Gerais Goiás Tocantins	<i>Habranthus gameleirensis</i> Ravenna
<i>Zephyranthes gracilifolia</i> (Herb.) G.Nicholson	Não	Rio Grande do Sul	<i>Habranthus gracilifolius</i> Herb. <i>Habranthus boothianus</i> Herb. <i>Habranthus estensis</i> Ravenna <i>Habranthus gracilifolius</i> var. <i>boothianus</i> Herb. <i>Zephyranthes gracilifolia</i> var. <i>bijou</i> E.Holmb.
<i>Zephyranthes gratissima</i> Ravenna	Desconhecido	Paraná	Não há
<i>Zephyranthes irwiniana</i> (Ravenna) Nic.García	Sim	Minas Gerais	<i>Habranthus irwinianus</i> Ravenna <i>Habranthus duarteanus</i> Ravenna

<i>Zephyranthes lactea</i> S.Moore	Sim	Goiás Mato Grosso do Sul Mato Grosso Minas Gerais	<i>Habranthus datensis</i> Ravenna <i>Habranthus lacteus</i> (S.Moore) Ravenna
<i>Zephyranthes lagesiana</i> Ravenna	Desconhecido	Santa Catarina	Não há
<i>Zephyranthes lagopaivae</i> (Campos-Rocha & Dutilh) Nic. García & Dutilh	Sim	São Paulo	<i>Eithea lagopaivae</i> Campos-Rocha & Dutilh
<i>Zephyranthes lucida</i> (R.S.Oliveira) R.S.Oliveira & Dutilh	Sim	Bahia	<i>Habranthus lucidus</i> R.S. Oliveira
<i>Zephyranthes mesochloa</i> Herb.	Não	Rio Grande do Sul Santa Catarina	<i>Amaryllis entreriana</i> O.Hoffm. <i>Amaryllis hassleriana</i> Chodat & Lendn. <i>Amaryllis mesochloa</i> (Herb. ex Lindl.) Steud. <i>Haylockia mesochloa</i> (Herb. ex Lindl.) M.Roem. <i>Mesochloa canaliculata</i> Raf. <i>Zephyranthes acuminata</i> Herb. <i>Zephyranthes bakeriana</i> Morong <i>Zephyranthes entreriana</i> (O.Hoffm.) Pax <i>Zephyranthes hassleriana</i> (Chodat & Lendn.) Traub <i>Zephyranthes kurtzii</i> Hunz. & Cocucci <i>Zephyranthes oxitepala</i> Speg. <i>Zephyranthes stenopetala</i> Baker <i>Zephyranthes timida</i> E.Holmb.
<i>Zephyranthes microstigma</i> Ravenna	Desconhecido	Rio Grande do Sul	Não há
<i>Zephyranthes minima</i> Herb.	Não	Rio Grande do Sul	<i>Amaryllis minima</i> (Herb.) Griseb. <i>Zephyranthes rositae</i> Herter
<i>Zephyranthes minor</i> (Ravenna) R.S. Oliveira	Sim	Tocantins	<i>Habranthus minor</i> Ravenna
<i>Zephyranthes pantanalensis</i> (Ravenna) R.S. Oliveira & Dutilh	Sim	Mato Grosso do Sul	<i>Habranthus pantanalensis</i> Ravenna
<i>Zephyranthes paranaensis</i> Ravenna	Desconhecido	Paraná	Não há
<i>Zephyranthes pedunculosa</i> Nic.García & S.C.Arroyo	Sim	Rio Grande do Sul	<i>Habranthus pedunculatus</i> Herb. <i>Habranthus concordiae</i> Ravenna <i>Habranthus paxii</i> Traub <i>Hippeastrum tubispathum</i> Pax <i>Zephyranthella tubispatha</i> Pax <i>Hippeastrum pedunculatum</i> (Herb.) E.Holmb.
<i>Zephyranthes purpurella</i> Ravenna	Desconhecido	Tocantins	Não há
<i>Zephyranthes robusta</i> (Herb.ex Sweet) Baker	Não	Paraná Rio de Janeiro Rio Grande do Sul Santa Catarina São Paulo	<i>Habranthus robustus</i> Herb. ex Sweet <i>Atamasco taubertiana</i> (Harms) Greene <i>Habranthus berteroi</i> (Spreng.) M.Roem <i>Zephyranthes taubertiana</i> Harms <i>Zephyranthes taubertii</i> Harms <i>Amaryllis robusta</i> (Herb. ex Sweet) Sweet ex Steud.
<i>Zephyranthes rubra</i> (Ravenna) R.S.Oliveira & Dutilh	Sim	Rio Grande do Sul	<i>Habranthus ruber</i> Ravenna
<i>Zephyranthes seubertii</i> (Seub.) H.H.Hume	Não	Rio Grande do Sul Santa Catarina	<i>Amaryllis parvula</i> Seub. <i>Zephyranthes parvula</i> (Seub.) Herter <i>Zephyranthes stellaris</i> Ravenna

<i>Zephyranthes sylvatica</i> (Mart. ex Schult. & Schult.f.) Baker	Sim	Alagoas Bahia Ceará Goiás Maranhão Paraíba Pernambuco Piauí Rio Grande do Norte Sergipe e Tocantins	<i>Amaryllis sylvatica</i> Mart. ex Schult. & Schult.f. <i>Habranthus conterminus</i> Ravenna <i>Habranthus maranensis</i> Ravenna <i>Habranthus sylvaticus</i> (Mart. ex Schult. & Schult.f.) Herb. <i>Hippeastrum sylvaticum</i> (Mart. ex Schult. & Schult.f.) Baker
<i>Zephyranthes stellaris</i> Ravenna	Desconhecido	Paraná Santa Catarina Rio Grande do Sul	<i>Amaryllis parvula</i> Seub. <i>Zephyranthes seubertii</i> (Seub.) H.H.Hume
<i>Zephyranthes tubispatha</i> (L'Hér.) Herb	Não	Rio Grande do Sul	<i>Amaryllis tubispatha</i> L'Hér. <i>Amaryllis andersonii</i> (Herb. ex Lindl.) Griseb. <i>Amaryllis depauperata</i> Poepp. <i>Atamasco texana</i> (Herb.) Greene
<i>Zephyranthes uruguiana</i> Ravenna	Desconhecido	Rio Grande do Sul	Não há

Fonte: Re flora – Flora e Funga do Brasil, 2024.

1.6 Espécies estudadas pertencentes ao gênero *Zephyranthes*

1.6.1 *Zephyranthes candida* (Lindl.) Herb.

Chamada de “lírio dos ventos”, *Z. candida* teve o conteúdo das plantas secas inteiras estudado por Ka et al. (2020). Dessa espécie foi isolado e caracterizado zeficandidina A (**10**) o primeiro alcaloide de imidazol[1,2-f] fenantridina encontrado na natureza. Do extrato etanólico de *Z. candida*, zeficandidinas I-III (**11** – **13**), foram isolados e suas estruturas foram elucidadas por métodos espectroscópicos, além de galantamina (**4**), plicamina (**14**) e seco-plicamina (**15**).

Jin e Yao (2019) também apresentaram um estudo sobre *Z. candida*. A partir de plantas inteiras coletadas em 2010 em Shiyan, Hubei, China, foram isolados alcaloides como licorina (**1**) hemantamina (**24**), *N*-fenetilcrinasiadina e *N*-metil-hemantidina, que demonstraram citotoxicidade significativa contra cinco linhagens de células tumorais humanas, incluindo leucemia mieloide (HL-60 e K562), câncer de pulmão (A549), carcinoma hepatocelular (HepG2) e câncer de cólon (HT-29), além de uma linhagem de células epiteliais brônquicas humanas imortalizadas, Beas-2B, que não apresentam características cancerosas. Em uma nova coleta, em 2011, os compostos isolados incluíram zeficandidina A (**10**), zeficandidinas I-III (**11** – **13**).

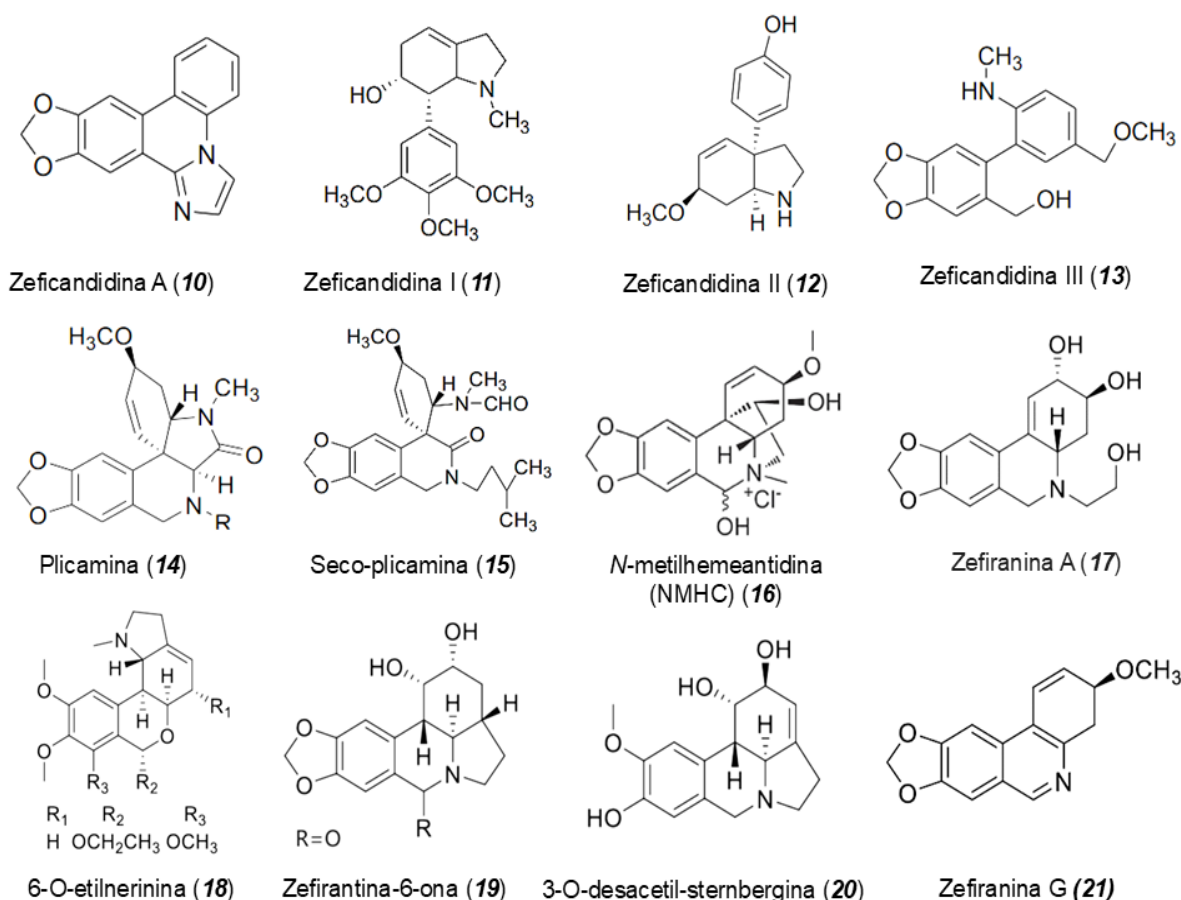
Zeficandidina A (**10**) é um alcaloide dinitrogenado raro da família Amaryllidaceae. A via biossintética desse alcaloide em *Z. candida* começa com tiramina e isovanilina, formando um alcaloide benzilfenetilamina, seguido por

acoplamento oxidativo de fenois para gerar um alcaloide do tipo licorina (**1**) (JIN; YAO, 2019).

Da mesma forma, Mambro et al. (2022) descreveram a capacidade dos alcaloides extraídos de *Z. candida* de inibir a enzima acetilcolinesterase (AChE). Estudos de acoplamento molecular dos compostos zeficandidinas I-III (**11** – **13**) e da galantamina (**4**) com AChE indicaram que as interações com os resíduos W286 e Y337 são essenciais para a atividade inibitória da enzima. Os alcaloides zeficandidina III (**13**) e galantamina (**4**) interagiram com Y337, indicando uma afinidade efetiva com o sítio catalítico. Em contraste, zeficandidina I (**11**) e II (**12**) não apresentaram tais interações. Consequentemente, o alcaloide zeficandidina III (**13**) e galantamina (**4**), apresentando valor de IC₅₀ de 8,82 µM e 1,02 µM, respectivamente, demonstrando uma forte atividade inibitória de AChE.

De acordo com Cahlíková et al. (2021) o alcaloide *N*-metilhemantidina (NMHC) (**16**), isolado de *Z. candida* demonstrou um efeito inibitório de crescimento contra células tumorais. Estudos mostraram que o NMHC inibiu a viabilidade celular das linhas de câncer pancreático AsPC-1, BxPC-3 e Mia PaCa-2 de maneira dependente da dose. Células tratadas com NMHC foram paradas na fase G₂/M (produção de células saudáveis com DNA completo e sem danos). O NMHC também reduziu o fluxo glicolítico, regulando negativamente as proteínas GLUT1, PGK1, LDHA e PKM2.

Figura 9. Estruturas químicas de alguns alcaloides de Amaryllidaceae (KA et al., 2020; ZHAN et al., 2023).



Na contínua pesquisa por novos alcaloides inibidores de AChE para o tratamento da DA, Zhan et al. (2023) publicaram o isolamento e a identificação de alcaloides pertencentes à espécie *Z. candida*, denominados zefiranina A (17) e 6-O-etilnerinina (18), além de dois produtos naturais não descritos anteriormente, denominados zefirantina-6-ona (19) e 3-O-desacetilsternbergina (20). Esses compostos, pertencentes a nove tipos estruturais diversos, foram isolados das plantas inteiras de *Z. candida*. As zefiraninas A (17), G (21) e H (22) apresentaram atividade inibitória moderada de AChE com valores de IC₅₀ iguais a 8,2 µM, 39,0 µM e 10,8 µM, respectivamente. Zefiranina B (23), hemantamina (24), hemantidina (25), 11-hidroxivittatina (26) e 8-desmetoxi-10-O-metilhostasina (27) exibiram potente atividade anti-inflamatória, reduzindo a produção de óxido nítrico induzida por lipopolissacarídeo (LPS) em macrófagos (RAW 264.7), com valores de IC₅₀ iguais a 21,3 µM, 4,6 µM, 12,2 µM, 5,6 µM e 17,4 µM, respectivamente. Este estudo também marcou o primeiro relato da atividade anti-inflamatória dos alcaloides do tipo gracilina

(ZHAN et al., 2023). Além disso, estudos anteriores já haviam revelado que AA de *Z. candida* possuem atividade inibitória de AChE e anti-inflamatória (ZHAN et al., 2017).

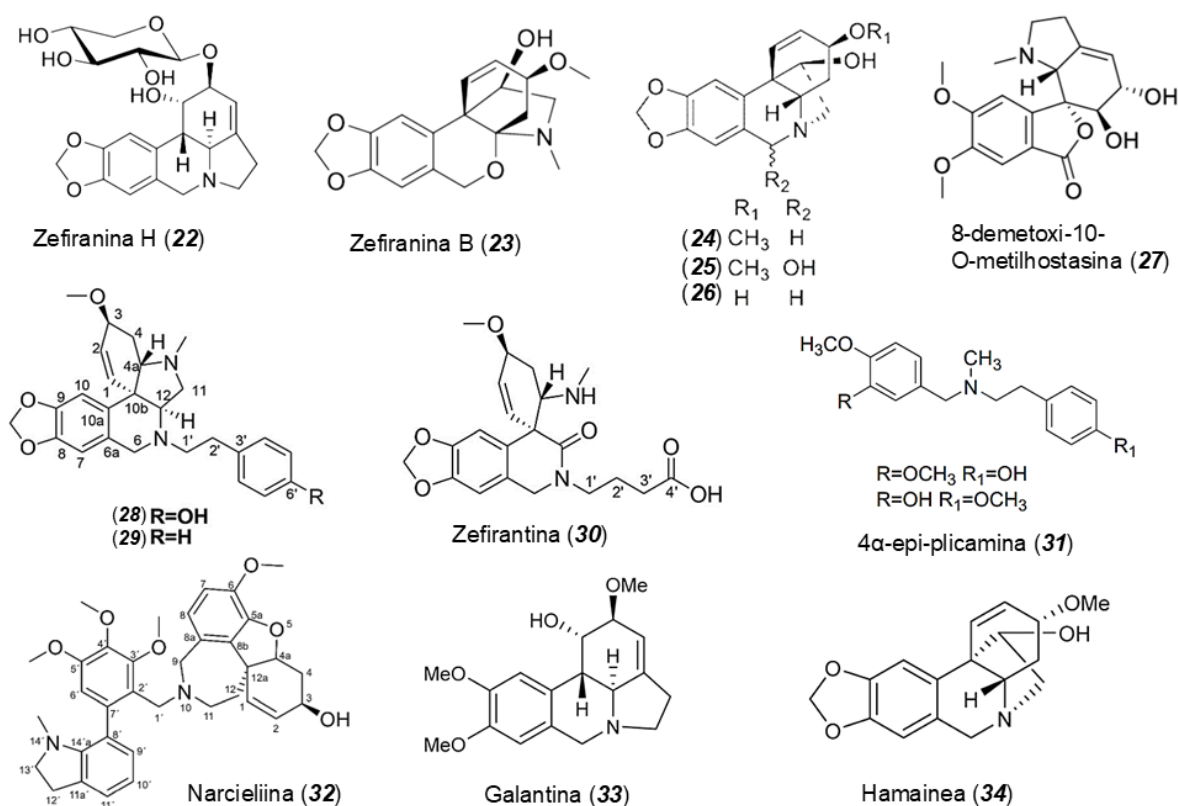
1.6.2 *Zephyranthes ajax* Hort.

Nguyen et al. (2020) realizaram a primeira identificação de alcaloides isolados na espécie *Zephyranthes ajax* Hort, uma planta perene cultivada no Vietnã. O conhecimento sobre seus constituintes químicos ainda é limitado. Estudos fitoquímicos revelaram que a espécie contém diversos alcaloides com atividade citotóxica, antiviral e antibacteriana, além de inibição da acetilcolinesterase. Entre os compostos identificados, destaca-se um derivado de flavanol, o (2*R*, 3*R*)-3-acetoxi-7-hidroxi-3',4'-metilenodioxiflavana e o alcaloide hemantamina (**24**). Ensaios de toxicidade mostraram que o composto **24** apresenta atividade citotóxica significativa contra diversas linhas celulares de câncer humano, incluindo carcinoma hepatocelular (HepG2), carcinoma pulmonar (SK-LU-1), carcinoma de boca (KB), carcinoma de cólon (SW480) e adenocarcinoma gástrico (AGS), com valores de IC₅₀ variando entre 4,4 µM e 11,3 µM.

1.6.3 *Zephyranthes grandiflora* Lindl.

Esta espécie é usada como medicinal e ornamental na China. Tradicionalmente, ela é usada para combater diversos males, como febre, inflamações, doenças respiratórias e exibe atividade citotóxica (YANG et al., 2022). Em estudos fitoquímicos do extrato etanólico de plantas inteiras da espécie *Z. grandiflora*, Yang et al. (2022) descreveram três novos alcaloides isolados: zefirantinas (**28-30**), do tipo 4α-*epi*-plicamina (**31**). A elucidação estrutural de todos os compostos foi realizada por métodos espectrométricos, e todos os alcaloides foram avaliados *in vitro* quanto à atividade citotóxica contra seis linhagens de células de glioma: CHG-5, SH-SY5Y, SHG-44, U251, U343 e GL15. Os alcaloides **29** e **30** exibiram atividade citotóxica significativa contra todas as linhagens testadas, com valores de IC₅₀ inferiores a 20 µM.

Figura 10. Estruturas químicas de alguns alcaloides de Amaryllidaceae (ZHAN et al., 2023; YANG et al., 2022).



1.6.4 *Zephyranthes citrina* Baker.

Kohelová et al. (2021) conduziram uma investigação fitoquímica do extrato alcaloidico de bulbos frescos de *Z. citrina*, que resultou no isolamento e identificação de AA, incluindo narcielliina (32). Hemantamina (24) foi identificado como o alcaloide predominante no extrato alcaloidico de *Z. citrina*. A elucidação das estruturas químicas foi realizada por meio de técnicas espectroscópicas e comparação com dados da literatura. Os alcaloides isolados em quantidades adequadas foram avaliados quanto à inibição *in vitro* das enzimas AChE, BuChE e proliloligopeptidase (POP). Narcielliina (32) demonstrou atividade inibitória significativa sobre as enzimas AChE e BuChE humanas, com IC₅₀ igual a 18,7 μM e 1,34 μM, respectivamente. Esses resultados sugerem que narcielliina (32) possui atividades biológicas promissoras, destacando seu potencial no tratamento de doenças neurodegenerativas.

1.6.5 *Zephyranthes carinata* Herb

Foi relatado por Sierra et al. (2022) que *Zephyranthes carinata*, possui atividade inibitória sobre AChE. Os autores descreveram o isolamento de AA e sua capacidade de inibir as enzimas AChE e BuChE, com a galantina (**33**), sendo o principal componente identificado. Além da galantina (**33**), também foram identificados licorina (**1**), vittatina/crinina (**3**), tazetina (**9**), hemantamina (**24**), hamaina (**34**), licoramina (**35**) e trispaeridina (**36**). Os resultados mostraram que a galantina (**33**) tem uma atividade inibitória de AChE significativa, em baixas concentrações micromolares ($IC_{50} = 1,96 \mu\text{g/mL}$). Análises de dinâmica molecular sugeriram que galantina (**33**) possui um modo de inibição diferente da galantamina (**4**), interagindo com o sítio de ligação aniônica periférico da enzima, o que impede a entrada e saída de moléculas do sítio ativo. Assim, a combinação de ensaios de triagem *in vitro* e desenvolvimento computacional é essencial na busca por novos inibidores da AChE, ajudando a identificar interações bioativas desconhecidas.

Ka et al. (2020), relataram que estudos adicionais realizados em plantas inteiras de *Z. carinata* resultaram no isolamento de licorina (**1**), plicamina (**14**), seco-plicamina (**15**), 4 α -epi-plicamina (**31**), 12-acetilplicamina (**37**) e *N*-desformil-seco-plicamina (**38**), além de zeficarinatinas A (**39**), B (**40**) e G (**41**).

1.6.6 *Zephyranthes minuta* (Kunth) D.Dietr.

As pesquisas conduzidas por Katoch et al. (2019b) caracterizaram cinco AA em extratos de *Zephyranthes minuta*. O estudo de citotoxicidade *in vitro* do extrato etanólico, frações (n-hexano, clorofórmio e n-butanol) e compostos isolados contra duas linhagens de células cancerígenas humanas (KB e SiHa) revelou a potencial atividade citotóxica do extrato etanólico e da fração n-butanólica, atribuída à presença de alcaloides ativos como licorina (**1**), hemantamina (**24**), pancratistatina (**42**) e 1-O-(3-hidroxibutiril)pancratistatina (**43**).

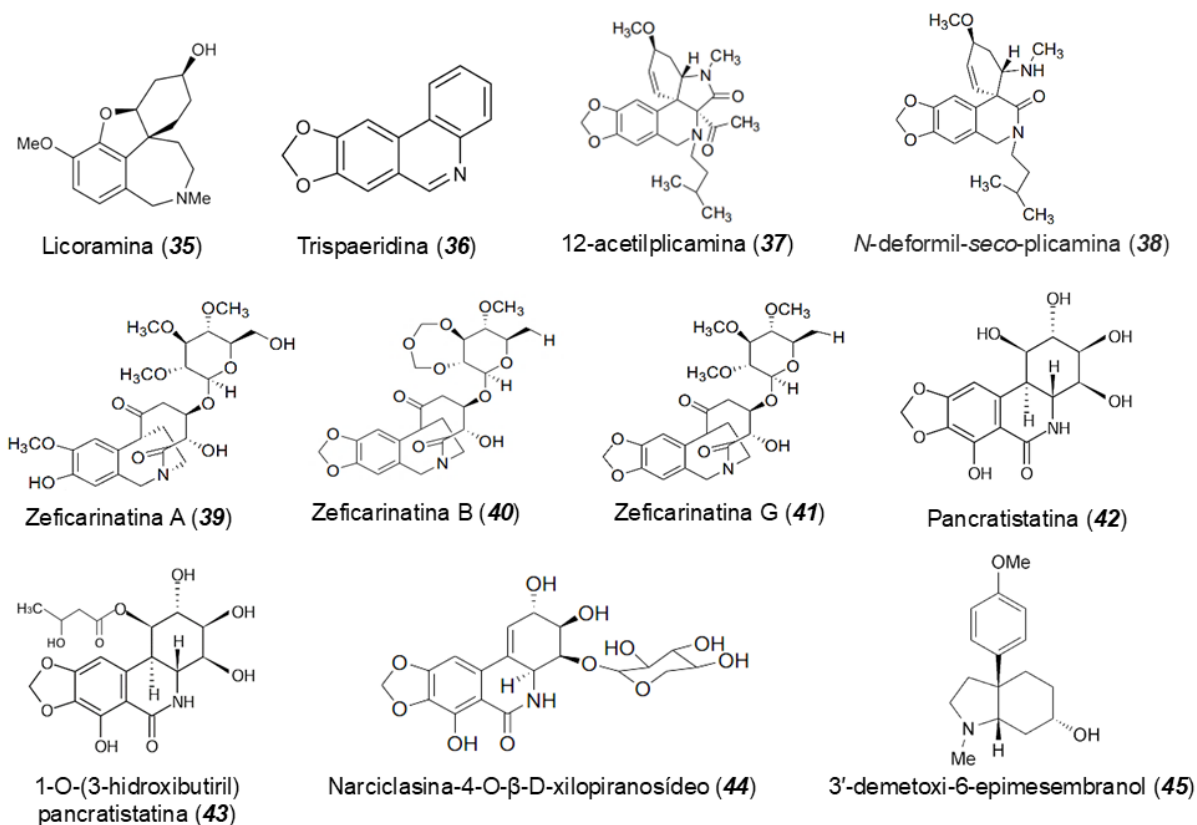
Além disso, Ka et al. (2020) relataram a descoberta de um glicosídeo de narciclasina, isolado da planta inteira de *Z. minuta*, denominado narciclasina-4-O- β -D-xilopiranosídeo (**44**).

1.6.7 *Zephyranthes fosteri* Traub.

Conhecida pelos camponeses como 'flor de maio', a espécie *Zephyranthes fosteri* é endêmica do México e sua distribuição abrange a região central do país. A

análise por CG/EM dos extratos dos bulbos e das partes aéreas revelou a presença de alcaloides, incluindo licorina (**1**), galantamina (**4**) e 3'-desmetoxi-6-epimesembranol (**45**). O extrato metanólico, a fração alcaloídica e o composto **1** mostraram atividade inibitória sobre a acetilcolinesterase *in vitro* (CENTENO-BETANZOS et al., 2022).

Figura 11. Estruturas químicas de alguns alcaloides de Amaryllidaceae (CAHLÍKOVÁ et al., 2021; KOHELOVÁ et al., 2021; SIERRA et al., 2022).



1.6.8 *Zephyranthes irwiniana* (Ravenna) Nic García.

A espécie *Zephyranthes irwiniana* (Figura 12), objeto de estudo deste trabalho, é endêmica do Brasil. Sua distribuição geográfica concentra-se no Estado de Minas Gerais, especialmente no sul da Cadeia do Espinhaço, próximo a Belo Horizonte, com ocorrências isoladas nas serras da Canastra e Ibitipoca. Além disso, a espécie também é encontrada nos estados da Bahia, Goiás, Pernambuco e São Paulo (AMARAL-LOPES; CAVALCANTI, 2015), estando presente em domínios fitogeográficos como a Savana Central Brasileira e a Mata Atlântica (FLORA E FUNGA DO BRASIL, 2024).

Zephyranthes irwiniana cresce predominantemente em campos arenopregosos, frequentemente associados a solos ferrosos, e em cerrado rupestre,

especialmente em substratos pedregosos (AMARAL-LOPES; CAVALCANTI, 2015). A espécie é valorizada pela beleza de suas flores, que possuem tépalas oblanceoladas em tons de rosa a lilás. Suas folhas, que estão presentes durante a antese, são verdes com base vinácea e possuem formato filiforme. A planta apresenta bulbos globosos (AMARAL, 2012). A floração ocorre entre julho e fevereiro (AMARAL-LOPES; CAVALCANTI, 2015).

Anteriormente, essa espécie era conhecida como *Habranthus irwinianus* Ravenna, mas seu nome foi revisado e alterado por García et al. (2019). Amaral-Lopes e Cavalcanti (2015) já haviam destacado a dificuldade em separar morfologicamente os gêneros *Habranthus* e *Zephyranthes*. Essa dificuldade deve-se à semelhança estrutural das flores, à ocorrência simpátrica das espécies e à ausência de caracteres morfológicos suficientemente diferenciadores para distinguir os dois gêneros.

A espécie apresenta bulbos globosos, medindo entre 1,5 e 2,2 cm de diâmetro e 1 e 2,5 cm de altura, com um colo de 7 a 25 mm de comprimento.

Figura 12. Fotografia de *Zephyranthes irwiniana*, realçando a flor e folhas.



Fonte: Próprio autor.

Uma busca sobre a espécie e suas sinônimas (*H. irwinianus* e *Z. irwiniana*) em bancos de dados e motores de busca, como ELSEVIER, Comunidade Acadêmica Federada, Springer Link, Nature, MDPI e Google Acadêmico, revelou uma carência de relatos científicos ou informações relacionadas ao perfil químico e propriedades

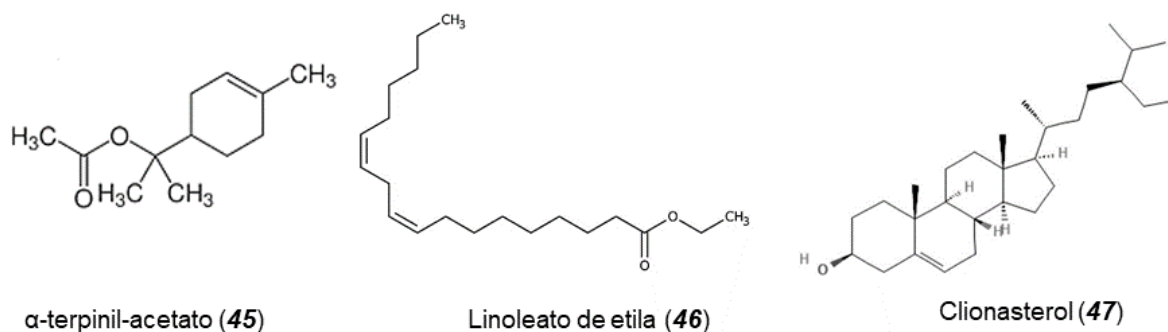
biológicas de seus extratos. No entanto, encontra-se no repositório de pesquisa da UnB uma dissertação de mestrado intitulada “Potencial de inibição de enzimas de interesse farmacêutico por espécies de Amaryllidaceae”, que apresenta atividades relevantes da fração aquosa do extrato etanólico de *H. irwinianus* na inibição da enzima α -glicosidase, bem como resultados não conclusivos na inibição acetilcolinesterase (LOPEZ, 2018). Além disso, há uma tese de doutorado com o título “Estudo químico biomonitorado de espécies de Amaryllidaceae: *Crinum latifolium* L. e *Hippeastrum psittacinum* (Ker Gawl.) Herb.”, que apresenta resultados para os extratos etanólicos e hexânicos dos bulbos de *Hymenocallis litorallis*, *Hippeastrum* sp., *H. psittacinum*, *H. stapfianum*, *Crinum latifolium* e *Zephyranthes irwiniana*, analisados quanto ao perfil alcaloídico utilizando CG-EM. A análise do extrato etanólico de *Z. irwiniana* revelou a presença de um composto derivado de homolicorina (**6**) com baixa abundância relativa, além de um composto desconhecido com IR = 2602. No extrato hexânico, foi identificado um derivado de esteroide com IR = 3472,4. Os extratos de *Hymenocallis litorallis*, *Hippeastrum stapfianum* e *Zephyranthes irwiniana* mostraram-se os mais citotóxicos no modelo celular de macrófagos murinos (SILVA, 2019).

A revisão de literatura revelou uma escassez de estudos químicos sobre *Zephyranthes irwiniana*, sendo identificado apenas o trabalho de Dewes Neto et al. (2024). Esse estudo constatou que, até então, poucos trabalhos haviam sido realizados para avaliar as propriedades biológicas dessa espécie. Além disso, não existem registros de seu uso tradicional ou medicinal no Brasil, tampouco investigações sobre sua propagação ou análise fitoquímica em condições controladas.

O estudo de Dewes Neto et al. (2024) representou o primeiro avanço significativo ao caracterizar o perfil químico de *Z. irwiniana*, identificando 15 compostos bioativos. Entre estas substâncias, os compostos α -terpinil-acetato (**45**), linoleato de etila (**46**) e clionasterol (**47**) foram detectados em pelo menos 80% dos extratos analisados. O alcaloide licorina (**1**), embora presente em menor frequência, também foi selecionado para análise devido ao seu amplo espectro de atividades biológicas relatadas na literatura científica, incluindo propriedades medicinais destacadas.

Apesar das contribuições iniciais desse estudo, ainda existem lacunas importantes na literatura, como a ausência de investigações detalhadas sobre mais compostos que podem ser identificados bem como suas eficácias biológicas, e a falta de estudos relacionados ao desenvolvimento sustentável e à conservação da espécie.

Essas limitações evidenciam um potencial inexplorado, cujo aprofundamento pode gerar contribuições significativas tanto para o avanço científico quanto para o aproveitamento econômico de espécies brasileiras da família Amaryllidaceae. Para preencher essas lacunas, são necessárias pesquisas adicionais que ampliem o entendimento sobre as propriedades biológicas e farmacológicas de *Z. irwiniana*.



1.7 A Doença de Alzheimer

A Doença de Alzheimer (DA) é uma patologia neurodegenerativa progressiva, caracterizada por deterioração cognitiva, incluindo perda de memória, comprometimento das habilidades linguísticas e alterações comportamentais e de personalidade. O envelhecimento, fatores ambientais, genéticos e o estilo de vida são considerados os principais fatores de risco para o desenvolvimento da DA.

A DA corresponde a cerca de 65% dos casos de demência em todo o mundo. Mais de 55 milhões de pessoas vivem atualmente com demência (WHO, 2023a). A cada ano, quase 10 milhões de novos casos são diagnosticados, e projeções sugerem que esse número poderá alcançar 78 milhões até 2030 (WHO, 2023a; ZHAN et al., 2023). Os números demonstram uma complexidade multifatorial da DA destaca a necessidade de abordagens de pesquisa mais abrangentes para desenvolver medicamentos que possam interromper a progressão da doença em várias vias patológicas (CHOWDHURY e KUMAR, 2020). Nos Estados Unidos, é esperado que o número de idosos com Alzheimer dobre até 2060 em relação aos níveis atuais (ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2021). No Brasil, entre 2010 e 2019, foi registrado um aumento de 87,7% nas internações relacionadas à doença.

A DA foi descrita pela primeira vez em 1907 pelo psiquiatra alemão Alois Alzheimer (SILVA et al., 2023). Apesar de sua causa exata ainda ser desconhecida,

suas características patológicas incluem alterações cerebrais distintas, como o acúmulo de fragmentos da proteína β -amiloide ($A\beta$), que formam placas β -amiloide localizadas ao redor dos neurônios (BESHIR et al., 2022). Além disso, a teoria do déficit colinérgico sugere uma redução nos níveis de acetilcolina (ACh), associada a uma disfunção na enzima colina acetiltransferase (ChAT) (BREIJYEH; KARAMAN, 2020).

Embora avanços significativos tenham sido alcançados na pesquisa, a cura para a DA ainda não foi encontrada. Atualmente, o tratamento é baseado principalmente no uso de inibidores da acetilcolinesterase (AChE), que têm como objetivo retardar a progressão da doença (SILVA et al., 2023). Donepezila, rivastigmina e galantamina (Figura 13) são os fármacos aprovados para esse propósito pela *Food and Drug Administration* (FDA), pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) e outras agências reguladoras (KOELOVÁ et al., 2021; BESHIR et al., 2022).

No entanto, as limitações dos tratamentos atuais para a DA, como a rivastigmina, podem ser discutidas em termos de eficácia limitada, efeitos colaterais e incapacidade de alterar a progressão da doença. Apesar de ser uma molécula de síntese simples, sua ação é apenas paliativa, melhorando temporariamente os sintomas cognitivos ao inibir a AChE. No entanto, estudos apontam que a rivastigmina e outros inibidores de AChE apresentam baixa especificidade, podendo interferir em outras enzimas, o que leva a efeitos adversos como náuseas, vômitos e distúrbios gastrointestinais (MOTEBENNUR et al., 2023; CACABELOS et al., 2024).

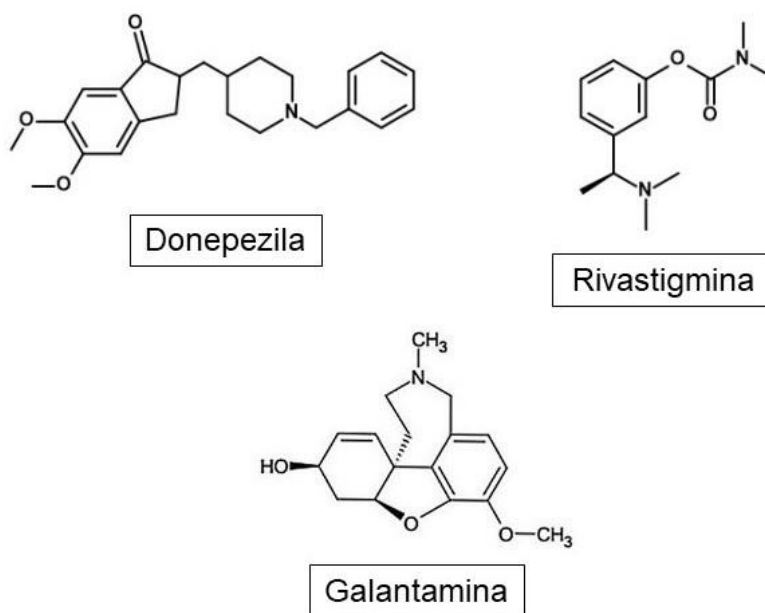
Além disso, o curto tempo de ação desses fármacos exige múltiplas doses diárias, o que compromete a adesão ao tratamento (MOSS, 2020). Outra limitação é sua eficácia restrita aos estágios iniciais da doença, pois não conseguem prevenir a morte neuronal ou tratar os aspectos multifatoriais da DA. Nesse sentido, a busca por compostos naturais, como os alcaloides da família Amaryllidaceae, tem ganhado destaque devido à sua capacidade de atuar em múltiplos alvos terapêuticos, incluindo propriedades antioxidantes e efeitos neuroprotetores (ARYA et al., 2021).

Entre os tratamentos disponíveis, a galantamina se destaca por ser o único derivado de uma fonte natural (KOELOVÁ et al., 2021; BESHIR et al., 2022). Esse composto é um inibidor seletivo, competitivo e reversível da AChE, que aumenta os níveis de ACh no córtex cerebral ao retardar sua degradação. Além disso, modula alostericamente os receptores nicotínicos da ACh, resultando em um aumento

adicional da ACh nos terminais nervosos pré-sinápticos. Essa substância também eleva os níveis de outros neurotransmissores, como glutamato e serotonina. A galantamina está disponível em diversas formulações orais, com doses variando de 4 a 24 mg (MARUCCI et al., 2021).

O mercado global de bromidrato de galantamina reflete sua relevância terapêutica crescente. Em 2023, o valor de mercado foi estimado em USD 1 bilhão, com projeção de atingir USD 2,1 bilhões até 2030. A taxa de crescimento anual composta (CAGR) de 11,2% entre 2023 e 2030 destaca o significativo interesse global em seu uso terapêutico, especialmente no tratamento de distúrbios cognitivos. E um dos fatores de crescimento do mercado é devido ao envelhecimento da população global e aumento de doenças neurodegenerativas (VMR, 2024).

Figura 13. Estrutura química dos fármacos donepezila, rivastigmina e galantamina.



1.8 Inibidores da Acetilcolinesterase

De acordo com a União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular, a AChE é classificada dentro do grupo das hidrolases, que são enzimas que atuam sobre as ligações éster de ésteres de ácidos carboxílicos (WALCZAK-NOWICKA; HERBET, 2021). A enzima AChE, localizada na membrana pós-sináptica, tem a função de hidrolisar o neurotransmissor acetilcolina (ACh) em colina (Ch) (SILVA et al., 2023). Este processo bloqueia a transmissão do impulso nervoso nos

interneurônios do sistema nervoso central. Além disso, a AChE também atua nas vias simpática e parassimpática pré-ganglionar dos neurônios do sistema nervoso autônomo, bem como na junção neuromuscular, que é a conexão entre o nervo motor e o músculo esquelético no sistema nervoso periférico. Este mecanismo é essencial para regular a atividade neuromuscular e a comunicação autônoma (BERKOV; et al, 2022).

A neurotransmissão colinérgica desempenha um papel crucial na função cognitiva, que é prejudicada na DA e em outros transtornos demenciais que surgem na idade adulta. Foram propostos tratamentos direcionados para combater o acúmulo de β -amiloide, a hiperfosforilação da proteína tau e por meio de imunoterapia, mas esses métodos não mostraram efeitos significativos e, foram descontinuados durante os ensaios clínicos de fase II ou III (MADAV; et al., 2019; CASTILLO-ORDOÑEZ e CAJAS-SALAZAR, 2020). Atualmente, elevar a neurotransmissão colinérgica continua sendo uma principal estratégia para o tratamento dos sintomas cognitivos e comportamentais da DA. Isso se deve ao fato de que a neurotransmissão colinérgica está envolvida nos processos de consolidação e aprendizagem da memória. (POURSHOJAEI; et al, 2019).

Em outro estudo, destacaram a importância das enzimas AChE e BuChE na fisiopatologia da DA e solidificaram o interesse terapêutico na inibição dessas enzimas (BERKOV; et al, 2022). Além disso, os inibidores das colinesterases (ChE-Is) agem prevenindo a degradação do neurotransmissor ACh, resultando em um aumento dos níveis de ACh no cérebro e, conseqüentemente, potencializando a neurotransmissão colinérgica cerebral, que é deficiente em pacientes com DA. Os ChE-Is foram os primeiros fármacos a serem oficialmente aprovados nos Estados Unidos e na Europa para o tratamento sintomático específico da DA (MARUCCI; et al, 2021).

Em alinhamento com esta abordagem terapêutica, um estudo utilizando o derivado de tetrahydroacridina, tacrina (Figura 14), obteve atividade inibitória reversível das enzimas AChE e BuChE. Esse composto foi a primeira molécula a ser testada em ensaios clínicos para o tratamento da DA. A pesquisa com tacrina iniciou-se em 1984, e o fármaco recebeu aprovação da FDA dos EUA em 1993. No entanto, a tacrina foi retirada do mercado em 2013 devido à necessidade de altas doses diárias, o que resultava em hepatotoxicidade. Essa toxicidade ao fígado exige um monitoramento constante dos níveis de enzimas hepáticas (CASTILLO-ORDOÑEZ e CAJAS-SALAZAR, 2020).

Figura 14. Estrutura da tacrina.



A donepezila (Figura 13) foi o segundo fármaco aprovado pela FDA, em 1996, para tratar a DA de ocorrência leve a moderada, e recebeu aprovação em 2010 para tratar a DA moderada a grave. É um inibidor não competitivo e reversível da AChE, e difere quimicamente de outros inibidores da AChE. A donepezila é altamente seletiva para AChE, tendo menor afinidade pela BuChE. Além disso, destaca-se por apresentar uma atividade antioxidante significativa (MARUCCI et al, 2021).

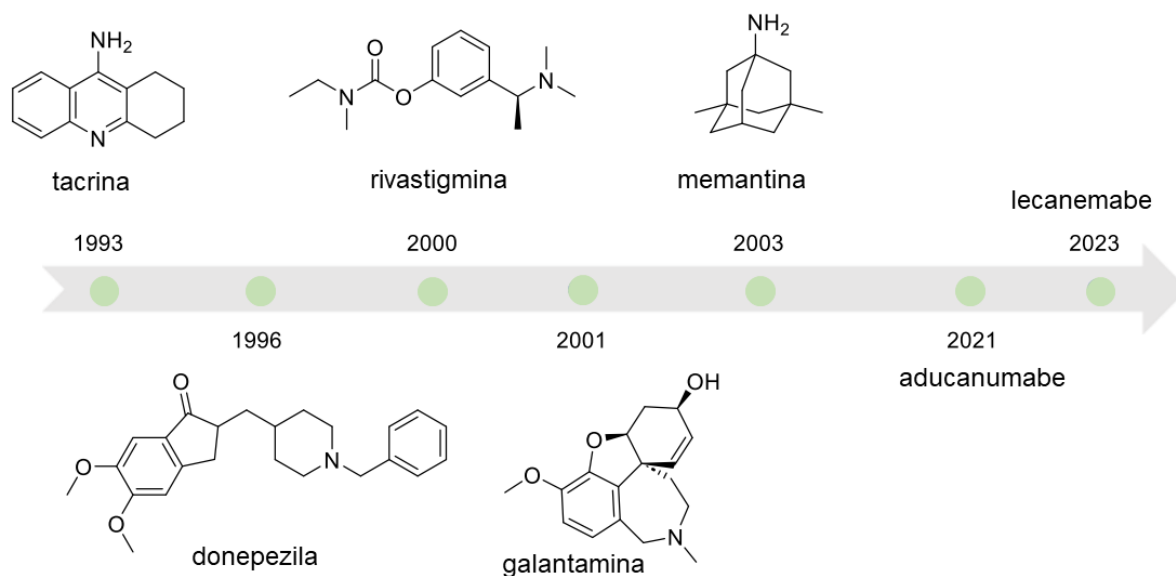
A rivastigmina é classificada como um inibidor de carbamato e atua temporariamente inibindo tanto a AChE quanto a BuChE. Ela forma um complexo por meio de uma ligação covalente nos sítios aniônicos e esteráticos do sítio ativo, como descrevem CASTILLO-ORDOÑEZ e CAJAS-SALAZAR, 2020.

A galantamina é um alcaloide derivado de plantas da família Amaryllidaceae e atua como um inibidor seletivo da AChE. Recomendada para pacientes com doença de Alzheimer em estágios leves a moderados, este fármaco demonstrou eficácia em retardar o declínio cognitivo e em reduzir significativamente a mortalidade nesses pacientes. Além disso, a galantamina aumenta os níveis de ACh nas sinapses, melhorando assim o tônus colinérgico (LIN et al., 2019; MARUCCI et al, 2021).

A memantina, um antagonista não competitivo dos receptores NMDA, protege contra a excitotoxicidade mediada pelo glutamato e é indicada para o tratamento da DA em estágios moderados a graves. Em 2014, o FDA aprovou a combinação fixa de memantina e donepezila para pacientes com DA nessas fases da doença. Em 2021, a FDA aprovou o aducanumabe, uma nova imunoterapia composta por um anticorpo monoclonal humano direcionado contra o epítipo A β , que atua na redução do depósito de placas de A β no tecido neuronal. Outro avanço significativo na terapia da DA foi a aprovação do lecanemabe, um anticorpo monoclonal IgG1 que diminui os

depósitos de amiloide, com uma preferência particular por protofibrilas. O lecanemabe foi aprovado pela FDA e atualmente está em processo de avaliação regulatória pela EMA (BEHL et al., 2022; RINAURO et al., 2024).

Figura 15. A cronologia das aprovações de medicamentos contra a Doença de Alzheimer pelo FDA.



1.9 Justificativa para o estudo químico e biológico dos extratos de *Zephyranthes irwiniana*

O estudo de produtos naturais, nas últimas décadas, tem sido uma estratégia eficaz para a descoberta de novos medicamentos (WHO, 2023b). Uma estratégia em voga envolve o desenvolvimento de novos agentes anti-Alzheimer que operem em múltiplas frentes, e a família Amaryllidaceae, notória por sua rica concentração de alcaloides, foi selecionada como o foco principal deste estudo devido às suas estruturas químicas únicas e ampla variedade de atividades biológicas (JIN e YAO, 2019). Atualmente, identificaram-se mais de 600 alcaloides de Amaryllidaceae, abrangendo 22 tipos de esqueletos diferentes. A aprovação da galantamina, um alcaloide dessa família, pela FDA, em 2001, para o tratamento da DA motivou a busca por inibidores mais eficazes da acetilcolinesterase (AChE) nas plantas desta família (ZHAN et al, 2023).

A espécie *Z. irwiniana* está incluída na Lista de Nacional de Espécies Ameaçadas de Extinção, classificada com vulnerável (VU), conforme a Portaria MMA nº 148, de 7 de junho de 2022 (BRASIL, 2022). Dessa forma, é essencial buscar

alternativas capazes de promover o aumento da produção e reprodução dessa espécie. Neste contexto, a micropropagação de plantas com potenciais medicinais surge como uma solução viável, permitindo a produção em larga escala para uso na indústria farmacêutica (PEREIRA et al., 2022).

De acordo com Rojas e Malosso (2022) a micropropagação de espécies vegetais é uma técnica biotecnológica que permite a propagação de plantas em tubos de ensaio de forma rápida, livre de vírus e doenças. Essa técnica tem sido amplamente utilizada por diversos setores, como comercial, agrícola, farmacêutico, cosmético e alimentício. Laboratórios têm direcionado seus esforços para o desenvolvimento e aprimoramento dessa técnica de multiplicação vegetal, pois essa abordagem possibilita a obtenção de benefícios econômicos, ao mesmo tempo em que evita a extinção das espécies vegetais na natureza.

Estudos anteriores revelaram que, dentre os alcaloides extraídos desta família, os pertencentes aos grupos da galantamina e da licorina demonstraram um potencial inibitório da AChE superior em comparação aos demais grupos de alcaloides (DEWES NETO et al, 2024).

O presente trabalho tem como finalidade avaliar o perfil químico e biológico de *Zephyranthes irwiniana* (Ravenna) Nic. García. (Amaryllidaceae), a partir de material obtido de micropropagação, utilizando-se sementes de indivíduos cultivados no Distrito Federal. Para isso, obteve-se o perfil cromatográfico e identificaram-se as estruturas químicas dos alcaloides utilizando métodos como a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG-EM). Além disso, detalhou-se a atividade biológica, com foco no potencial de inibição da acetilcolinesterase e nos testes antioxidantes. Este estudo visou contribuir para pesquisas futuras, fornecendo evidências de atividades desta espécie. Visou também conhecer melhor a biossíntese de compostos de interesse de *Z. irwiniana* para o tratamento da doença de Alzheimer (DA).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Caracterizar o perfil químico e avaliar a atividade biológica de extratos e frações de espécimens de *Zephyranthes irwiniana* (Ravenna) Nic. García obtidos por micropropagação.

2.2 Objetivos específicos

- Determinar o perfil cromatográfico dos extratos e frações de raiz, bulbo e folhas de *Zephyranthes irwiniana*, visando caracterizar os metabólitos secundários presentes;
- investigar *in vitro* a atividade antioxidante dos extratos e frações;
- avaliar *in vitro* a atividade dos extratos e respectivas frações obtidos quanto à inibição da enzima acetilcolinesterase.

3 MATERIAL E MÉTODOS

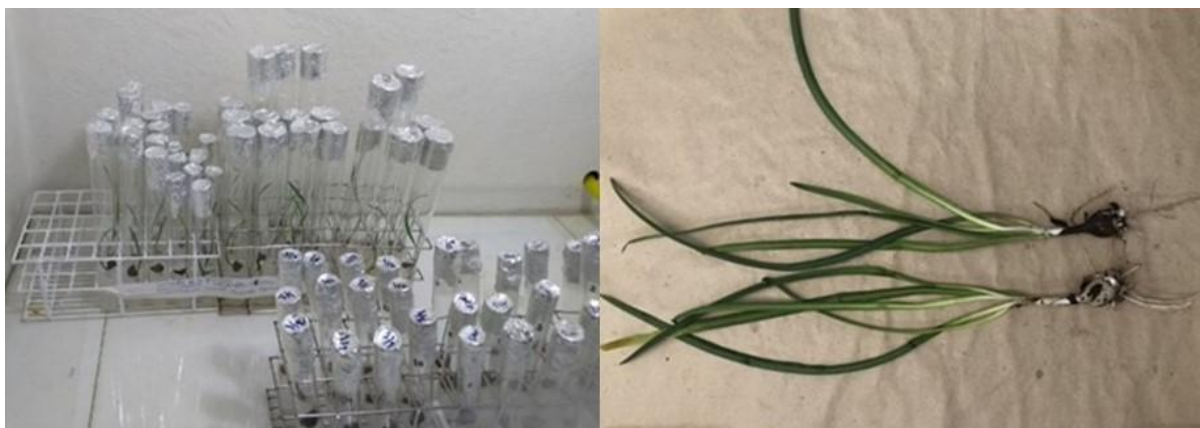
3.1 Preparo da amostra vegetal

Os exemplares cultivados de *Zephyranthes irwiniana* (Ravenna) Nic. García (Figura 16) foram oriundos de micropropagação, a partir de sementes obtidas de espécimens desenvolvidas de bulbos doados pela Embrapa Cenargen (código Embrapa ACA 62) ao Professor Doutor Christopher William Fagg. A exsicata utilizada para a identificação botânica foi depositada no Herbário da Universidade de Brasília (UB), sob o registro Fagg CW 2556. Os experimentos de micropropagação foram realizados no Laboratório de Produtos Naturais (LAProNat) da Universidade de Brasília (UnB) (Figura 17).

Para o preparo dos meios de cultura, foi utilizado o meio MS (Sigma-Aldrich M5519), suplementado com 3% de sacarose e 0,15% de Phytigel®, com o pH ajustado para 5,8. Após a preparação, 20 mL do meio foram distribuídos em tubos de ensaio de 25 x 150 mm, os quais foram esterilizados em autoclave a 121 °C e 1,5 atm por 20 minutos. As sementes inoculadas foram mantidas em sala de crescimento com iluminação controlada, e a germinação foi monitorada a partir da emergência das raízes. Os bulbilhos obtidos após 2 meses foram transplantados diretamente para vasos e cultivados a pleno sol.

A logística de cultivo (Figura 17) abrangeu etapas sistematizadas para o desenvolvimento de *Zephyranthes irwiniana*. Primeiro ocorreu a coleta e preparação do material inicial, que utilizou sementes provenientes de bulbos previamente doados e devidamente identificados. Em seguida, foi realizada a micropropagação em condições estéreis, aplicando técnicas biotecnológicas para o cultivo *in vitro*, assegurando um ambiente controlado e livre de patógenos. A etapa subsequente envolveu o crescimento e desenvolvimento das plantas, mantidas em meios de cultura específicos com controle rigoroso de pH, nutrientes e fotoperíodo, favorecendo a formação de raízes, bulbos e folhas. Por fim, ocorreu a transferência direta das plântulas para vasos contendo terra vegetal, sem necessidade da etapa de aclimação, processo em que as plantas são gradualmente adaptadas às condições externas, preparando-as para o cultivo fora do laboratório.

Figura 16. Micropropagação da espécie vegetal *Zephyranthes irwiniana*. À direita, um exemplar fresco após coleta.



Após seis meses, foram coletados folhas, bulbos e raízes, que foram separadamente cortadas ou fragmentadas em pedaços menores com o auxílio de uma faca previamente higienizada. O material vegetal foi secado em estufa com circulação e renovação de ar (Solab® SL 102), até atingir peso constante, com temperatura controlada entre 38 e 40 °C.

Figura 17. Esquema ilustrativo da micropropagação com a logística de cultivo de *Zephyranthes irwiniana* em Brasília, Distrito Federal.



3.2 Preparo dos extratos e frações

Para o preparo dos extratos de raízes, bulbos e folhas foi utilizado o método de maceração em temperatura ambiente. O material vegetal rasurado foi submetido à extração por maceração em percoladores de aço inox, utilizando uma proporção de 1:10 (massa:volume) entre o material botânico e os solventes.

O material vegetal (Tabela 4) foi, separadamente, extraído por hexano P.A e permaneceu em repouso. Após esse período, a solução extrativa foi esgotada, e o processo foi repetido três vezes. Em seguida, o material vegetal remanescente foi

submetido ao mesmo procedimento, utilizando etanol P.A. como solvente. As soluções extrativas foram obtidas por meio de filtração e submetidas a evaporação rotativa sob vácuo, com pressão reduzida e banho com temperatura inferior a 40 °C, utilizando o rotaevaporador Hei-VAP Advantage, ML, G1, 115v – Heidolph, para a eliminação dos solventes.

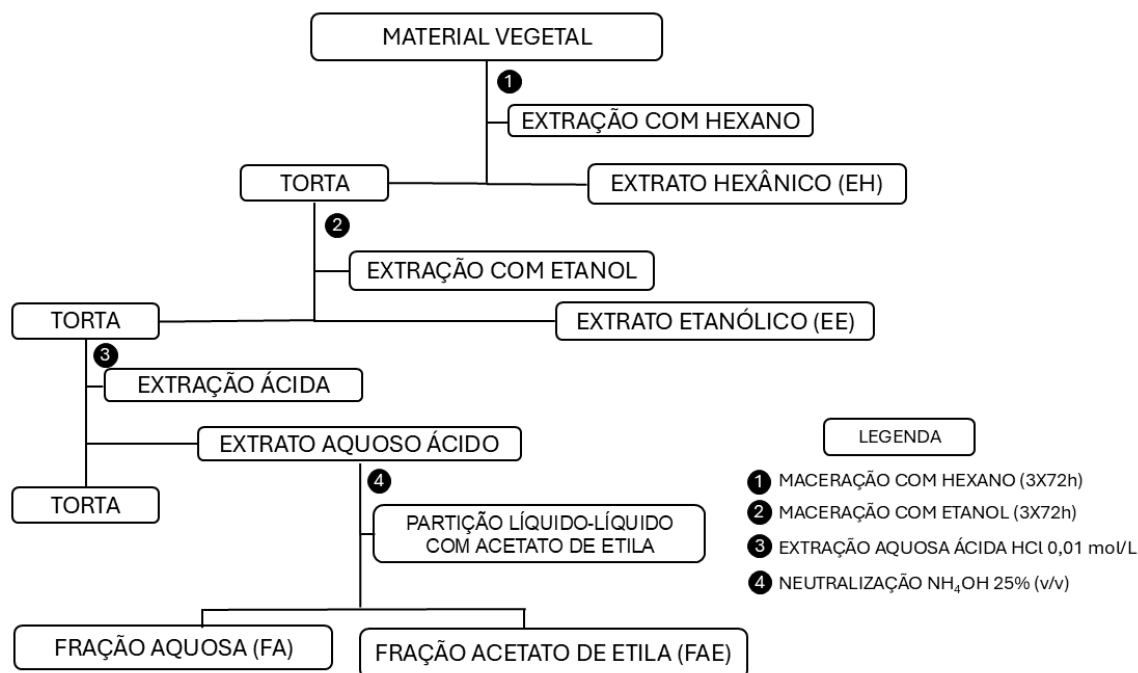
Tabela 4. Material vegetal utilizado nos procedimentos.

Material vegetal	Massa do material seco (g)
Folha	28,49
Bulbo	74,76
Raiz	13,43

O material vegetal remanescente (torta) foi então submetido a uma extração aquosa ácida. Para isso, foi adicionado aproximadamente 120,00 mL de ácido clorídrico 0,01 mol/L (v/v) ao material vegetal, e a mistura foi aquecida até a ebulição, obtendo-se uma solução aquosa ácida. A mistura foi agitada e, em seguida, filtrada. Após a filtração, o extrato aquoso ácido foi neutralizado com uma solução de hidróxido de amônio a 25% (v/v) até atingir pH 8,0. Posteriormente, realizou-se a partição líquido-líquido com acetato de etila (3 x 60 mL), efetuando três extrações sucessivas.

Em seguida, a fração orgânica foi lavada com água destilada para eliminar o resíduo de NH₄OH, secada com sulfato de sódio anidro e filtrada. O solvente foi eliminado através da evaporação rotativa com pressão reduzida e banho com uma temperatura inferior a 40 °C, sob vácuo. A fração aquosa neutralizada foi congelada e submetida à liofilização (remoção de água) utilizando o Liofilizador Advantage Plus XL-70, da SP Scientific. Todas as frações e extratos obtidos foram devidamente depositados em recipientes apropriados e armazenados em freezer a -20 °C até sua utilização nos ensaios subsequentes. A Figura 18 apresenta o esquema de obtenção dos extratos e frações de raiz, bulbo e folha de *Zephyranthes irwiniana*.

Figura 18. Esquema de extração de material vegetal obtido de *Zephyranthes irwiniana*.



Dessa maneira, os extratos hexânico (EH), etanólico (EE), fração aquosa (FA) e fração acetato de etila (FAE) foram obtidos conforme ilustrado na Figura 18. Esses extratos e frações foram armazenados sob refrigeração até serem utilizados nos ensaios biológicos e na análise do perfil químico.

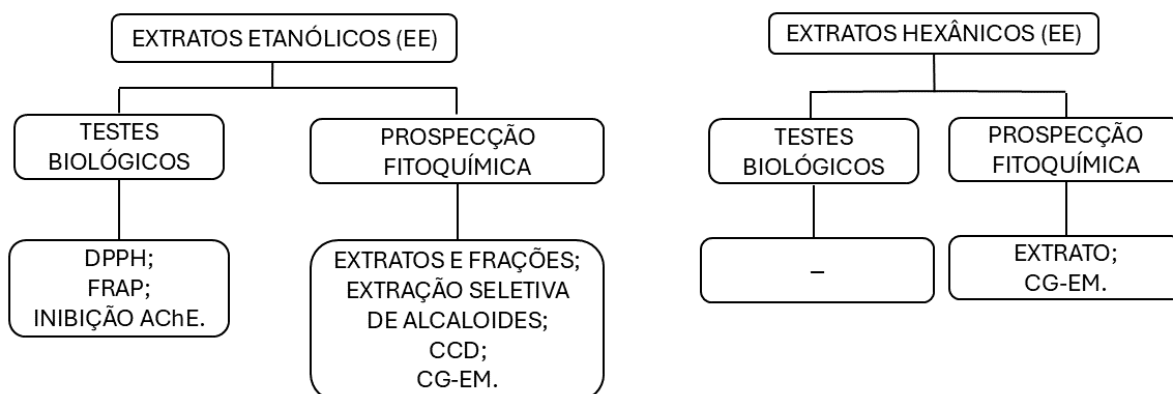
O rendimento dos extratos e das frações foi determinado utilizando a Equação 01.

$$\% \text{ Rendimento} = (\text{Extrato seco} / \text{Material vegetal seco}) \times 100.$$

Equação 01

A Figura 19 apresenta o esquema dos ensaios realizados na análise do perfil químico e nos testes biológicos. É importante destacar que os extratos hexânicos obtidos não foram utilizados nos ensaios biológicos devido à baixa solubilidade nos solventes utilizados nos testes.

Figura 19. Esquema representando os ensaios biológicos e químicos em amostras de *Zephyranthes irwiniana* (Ravenna) Nic. García.

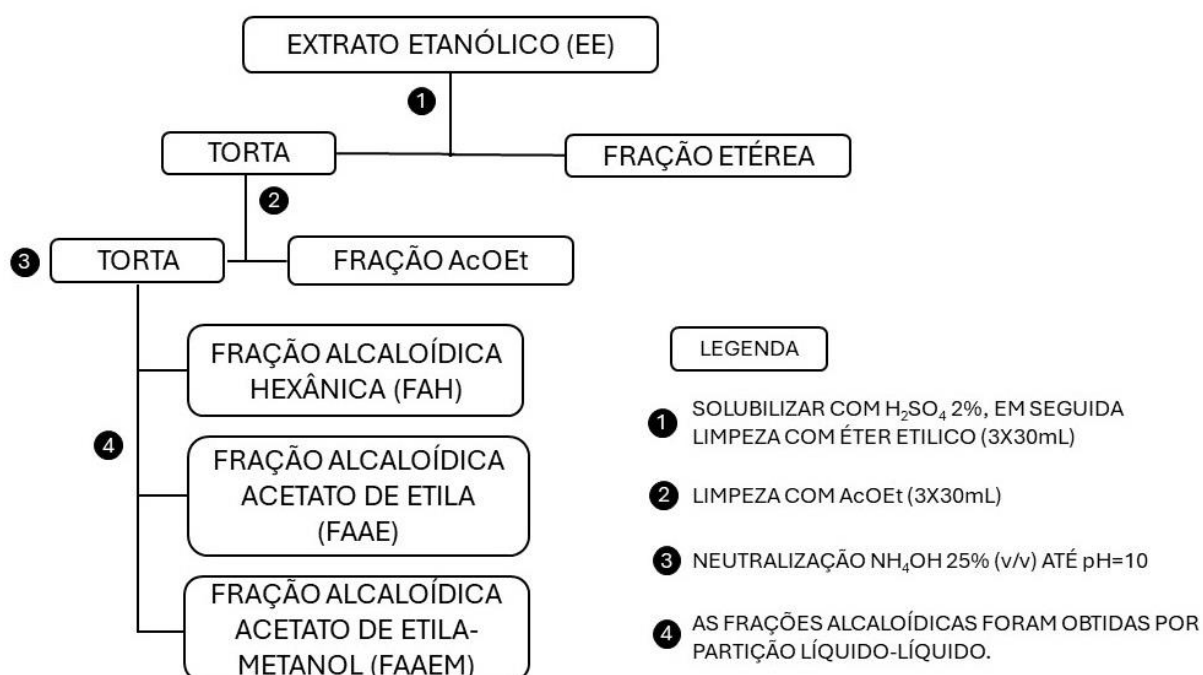


3.3 Extração seletiva de alcaloides a partir dos extratos orgânicos obtidos

O método descrito por De Andrade et al. (2014) foi utilizado na extração seletiva de alcaloides. Uma porção de 5 g de EE de folhas, bulbos e 500 mg de raízes foram pesados, separadamente, e solubilizados em 90 mL de solução de ácido sulfúrico 2 % (v/v). Em seguida, em um funil de separação, foram combinados a solução ácida e (3 x 30 mL) éter etílico. A fração etérea foi reunida e concentradas por rota-evaporação. O mesmo procedimento foi repetido utilizando acetato de etila.

A fração aquosa ácida restante foi basificada com solução aquosa de hidróxido de amônio (NH₄OH) 25% (v/v) até pH 10. A solução aquosa básica foi particionada com hexano (5 x 30 mL), seguido de extrações com acetato de etila (6 x 30 mL) e, finalmente, uma mistura de acetato de etila e metanol (3:1, v/v) (6 x 30 mL). As frações foram evaporadas com auxílio de evaporador rotatório, dando origem a três frações: fração hexânica (FAH), fração acetato de etila (FAAE) e fração acetato de etila-metanol (FAAEM). Todas as frações obtidas foram refrigeradas até sua utilização nos ensaios subsequentes. A Figura 20 apresenta o procedimento de extração seletiva descrito acima.

Figura 20. Esquema representando a extração seletiva de alcaloides de *Zephyranthes irwiniana*.



3.4 Cromatografia em Camada Delgada CCD

Os extratos etanólicos e hexânicos de folhas, bulbos e raízes foram analisados por cromatografia em camada delgada (CCD) em sílica gel 60 para obter informações sobre o perfil químico das amostras. As amostras, separadamente, foram dissolvidas em metanol na concentração de 1 mg/mL e aplicadas nas cromatoplasas com auxílio de um capilar, a uma distância de 1 cm da base inferior da placa e cerca de 1 cm de separação entre as amostras de folhas, bulbo e raízes.

Foram utilizadas cromatofolhas analíticas de alumínio recobertas com sílica gel (Kieselgel 60 Alugram Sil G, MACHEREY-NAGEL) espessura de 0,2 mm pré-ativadas como fase estacionária e diferentes solventes em diversas proporções foram usados na fase móvel. Os eluentes utilizados foram: hexano:acetato de etila (9:1, v/v), (8:2, v/v), clorofórmio:acetato de etila:metanol (45:40:15, v/v/v), acetato de etila:metanol (8:2, v/v), clorofórmio:acetona:diclorometano (5:4:1, v/v/v), diclorometano:metanol (8:2, v/v).

Após a eluição os cromatogramas foram observados sob luz UV (254 nm e 365 nm) e posteriormente revelados utilizando reveladores químicos. Os reveladores foram preparados seguindo a metodologia proposta por Wagner; Bladt (2001). Os

principais reveladores químicos utilizados na detecção de classes de metabólitos secundários foram:

- *Reagente de Dragendorff*: é um reagente para detecção de alcaloides e compostos nitrogenados, cuja presença é detectada pelo aparecimento de coloração alaranjada. É constituído de duas soluções: a solução A composta por subnitrato de bismuto em ácido acético: água (1:4); e a solução B composta por uma solução de iodeto de potássio 40%. A placa cromatográfica é borrifada com uma mistura em partes iguais das soluções A e B.
- *Reagente de Liebermann-Burchard*: é um reagente usado para identificar esteroides, triterpenos e saponinas, pelo aparecimento de manchas de diversas cores, principalmente azuladas ou arroxeadas. A placa cromatográfica é borrifada com a solução de 0,1 mL ácido sulfúrico concentrado e 5 mL de anidrido acético e aquecida com um secador serigráfico.
- *Reagente anisaldeído sulfúrico*: é um reagente para detecção de esteroides, saponinas e compostos fenólicos, detectados pela formação de manchas de cor róseas ou roxas. É constituído de duas soluções: a solução A composta por anisaldeído em ácido acético 2%; e solução B, composta por solução etanólica de ácido sulfúrico 20%. A placa cromatográfica é borrifada com as soluções A e B e em seguida aquecida, com auxílio de secador serigráfico, até o surgimento das bandas.

3.5 Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM)

Os extratos hexânicos e as frações alcaloídicas acetato de etila, frações alcaloídicas acetato de etila/metanol e as frações alcaloídicas hexânica (3:1) de folhas, bulbos e raízes foram submetidos à cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) para obtenção do perfil cromatográfico (as frações foram diluídas em metanol na concentração de 3 mg/mL. A análise da CG-EM foi realizada no Laboratório de Controle da Qualidade da Universidade de Brasília (LCQ-UnB) em um cromatógrafo gasoso modelo Perkin Elmer Clarus® SQ 8, marca Perkin Elmer, acoplado com espectrômetro de massas quadrupolo modelo Clarus SQ8 MS, marca Perkin Elmer, Singapore.

As corridas cromatográficas foram efetuadas em colunas capilar Elite-5MS (30 m x 0,25 mm x espessura do filme 0,25 µm); o gradiente de temperatura foi de 100 °C durante 12 minutos, com um aumento de 15 °C por minuto até 180 °C, seguida de

180-300 °C a 5 °C por minuto e temperatura final de 300 °C por 10 minutos. O gás transportador foi hélio, com uma velocidade de fluxo constante de 1 mL/min. A faixa espectros de massa do detector foi 30-450 m/z.

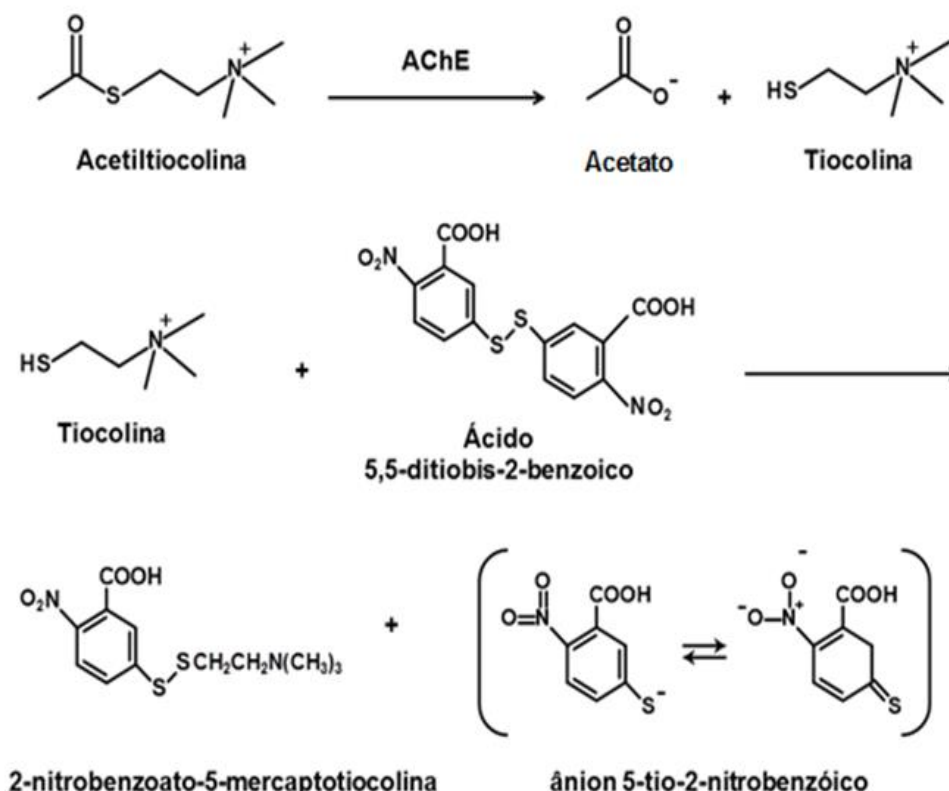
Os espectros de massas foram analisados utilizando o software AMDIS 2.73 (NIST) (WA, USA) e índices de retenção de Kovats (IR) foram analisados utilizando uma mistura de padrões alcanos lineares (C₉-C₃₆) injetadas no aparelho nas mesmas condições cromatográficas já mencionadas (DEWES NETO, et al. 2024). A proporção de cada componente presente no extrato e frações analisados (CG-EM) foi expressa como porcentagem relativa (%TIC, do inglês *total ion current*).

Os compostos foram identificados comparando-se os seus espectros de massa referentes a cada pico do cromatograma e os índices de retenção (IR, de Kovats), ambos comparados àqueles da biblioteca *National Institute of Standards and Technology* (NIST MS[®] SEARCH) e dados da literatura atualizados.

3.6 Avaliação da atividade de inibição da acetilcolinesterase

A atividade inibitória da enzima acetilcolinesterase (AChE) foi determinada por meio de reação colorimétrica, segundo Ellman et al. (1961), com algumas modificações, segundo López et al. (2002) (GOMES et al., 2022). Neste método, a enzima acetilcolinesterase hidrolisa a acetiltiocolina em acetato e tiocolina, que reage com o ácido 5,5-ditiobis-2-benzoico (DTNB), produzindo 2-nitrobenzoato-5-mercaptotiocolina e ânion ácido 5-tio-2-nitrobenzoico, cuja formação pode ser monitorada a 405 nm (Figura 21), (ELLMAN et al., 1961; LÓPEZ et al., 2002; GOMES et al., 2022).

Figura 21. Esquema de reações do ensaio acetilcolinesterase pelo método de Ellman.



A enzima acetilcolinesterase realiza a hidrólise da acetiltiocolina em dois grupos, acetato e tiocolina; onde a tiocolina reduz o ácido 5,5-ditiobis-2-benzoico e produz o 2-nitrobenzoato-5-mercaptotiocolina e o ânion 5-tio-2-nitrobenzóico.

Fonte: GOMES, J.V.D. (2020).

Inicialmente foi preparada uma solução tampão fosfato salina (PBS), pH 7,5, composta por K_2HPO_4 8 mM (Vetec®, 98 %), NaH_2PO_4 2,3 mmol/L (Sinth®, 98 %), NaCl 0,15 mmol/L (Vetec®, 99 %), diluídas em 1000 mL de água destilada.

A solução de acetilcolinesterase (solução estoque) foi preparada dissolvendo-se 1 mg de acetilcolinesterase de *Electrophorus electricus* (137,0 U/mg sólido em 217 U/mg de proteína, Sigma Aldrich®) em 1 mL de tampão fosfato salina (PBS), sendo então armazenada em freezer a uma temperatura de -20°C . Para o ensaio, uma solução foi preparada com uma concentração final de 0,25 U/mL em PBS.

A solução de substrato foi preparada com iodeto de acetiltiocolina 0,24 mmol/L (Sigma Aldrich®, 98 %), Na_2HPO_4 0,04 mmol/L (Merck®, 99 %) e DTNB 0,2 mmol/L (Sigma Aldrich®, 99 %) dissolvidos em 20 mL de água destilada. Posteriormente, foi preparada uma solução estoque de bromidrato de galantamina, gentilmente cedido

por Libbs Farmacêutica (inibidor padrão da enzima acetilcolinesterase usado como controle positivo de inibição) diluído em metanol 1 mg/mL e armazenado a -20 °C.

Os extratos e as frações aquosas foram dissolvidos em dimetilsulfóxido (DMSO), metanol (MeOH) ou PBS na concentração de 50 mg/mL. Neste ensaio, a concentração final de DMSO e MeOH foi 0,5% (v/v), e o controle de solvente foi avaliado na mesma concentração.

O teste foi realizado em placa contendo 96 poços, onde foram adicionados em cada poço 50 µL de tampão, 50 µL da amostra (extratos e frações) e 50 µL de solução enzimática. Esta mistura foi incubada durante 30 minutos a temperatura ambiente ao abrigo da luz. Logo em seguida, foram adicionados 100 µL da solução do substrato e a mistura incubada por mais 10 minutos a temperatura ambiente ao abrigo da luz. A absorbância foi medida a 405 nm em leitor de microplaca Multimode Plate Reader EnSpire, modelo Perkin-Elmer, Singapore. As amostras foram analisadas em triplicata, conforme ilustrado na Figura 22.

Foi considerada a absorbância da mistura sem inibidor com 50 µL de enzima, 100 µL de PBS e 100 µL de substrato, descontado do valor da absorção sem a enzima com 150 µL de tampão e 100 µL de substrato, como controle de atividade enzimática máxima. Foram também utilizados brancos com 50 µL de amostra, 100 µL de substrato e 100 µL de PBS para cada concentração. A porcentagem de inibição da acetilcolinesterase foi calculada por meio da Equação 02:

$$\% \text{ de inibição} = \left[\frac{C-A}{C} \right] \times 100$$

Equação 02

onde C representa a absorbância do controle de atividade enzimática máxima e A a absorbância da amostra (subtraídos dos seus brancos).

Figura 22. Esquema ilustrativo do ensaio de inibição de acetilcolinesterase (AChE) pelo método de Ellman.



As concentrações dos extratos e frações foram estabelecidas na proporção de 1:3, variando entre 7,81-1000 $\mu\text{g/mL}$, nos poços. A curva dose-resposta do bromidrato de galantamina foi elaborada com concentrações que variaram de 0,3125-15 $\mu\text{g/mL}$. A curva de inibição enzimática foi obtida por meio da porcentagem de inibição enzimática e o logaritmo da concentração do inibidor. O resultado do cálculo de concentração necessária de uma inibição de 50% da atividade enzimática máxima (CI_{50}), foi realizado por meio de análise de curva de regressão não-linear utilizando o software estatístico GraphPad Prism®.

3.7 Determinação da atividade antioxidante pela captura do radical DPPH•

A atividade antioxidante foi determinada segundo Blois (1958). Esse método *in vitro* baseia-se no sequestro do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH•). Para este ensaio foram preparadas soluções dos extratos e frações, solução do radical DPPH•, tampão acetato e padrão (ácido ascórbico).

Para preparar uma solução de 100 μM do radical DPPH•, 10,24 mg do radical foram pesados e solubilizados em 130 mL de álcool etílico 95% (v/v) em um frasco âmbar. O frasco foi então envolto em papel alumínio para proteger da luz e colocado em um banho ultrassom por 20 minutos para garantir completa dissolução.

Simultaneamente, uma solução em branco foi preparada combinando 25 µL de água com 475 µL de etanol, resultando em uma concentração final de 5% de água. Esta solução foi utilizada para assegurar a mesma concentração de água nos poços da amostra durante o ensaio.

Para as amostras, diluições seriadas de extrato e fração foram preparadas, iniciando em 500,00 µg/mL, utilizando álcool etílico 95% (v/v) como solvente. Paralelamente, uma solução de ácido ascórbico (AA) a 500 µg/mL foi preparada dissolvendo 10,0 mg de AA em 20 mL de álcool etílico 95%.

O ensaio foi realizado em uma microplaca de 96 poços, adicionando 100 µL de álcool etílico 95%, 100 µL de cada amostra, 100 µL da solução de radical DPPH• (500 µmol/L) e 100 µL da solução em branco a cada poço. Para o controle (branco da amostra), foram adicionados 100 µL de álcool etílico 95% e 100 µL de solução de radical DPPH em cada poço correspondente.

A mistura foi incubada por 30 minutos à temperatura ambiente. Após a incubação, a absorbância foi medida usando um espectrofotômetro Multimode Plate Reader (EnSpire, Perkin-Elmer, Singapore) a 517 nm. A atividade sequestradora de radicais livres das amostras foi calculada usando a Equação 03, a qual não foi especificada no texto original, mas geralmente envolve a comparação da absorbância do controle com a das amostras tratadas.

$$\% \text{ de atividade sequestradora} = \left[\frac{C - A}{C} \right] \times 100$$

Equação 03

onde C representa a absorbância do controle negativo de atividade e A representa a absorbância da amostra ou do padrão, ambos subtraídos dos seus respectivos brancos.

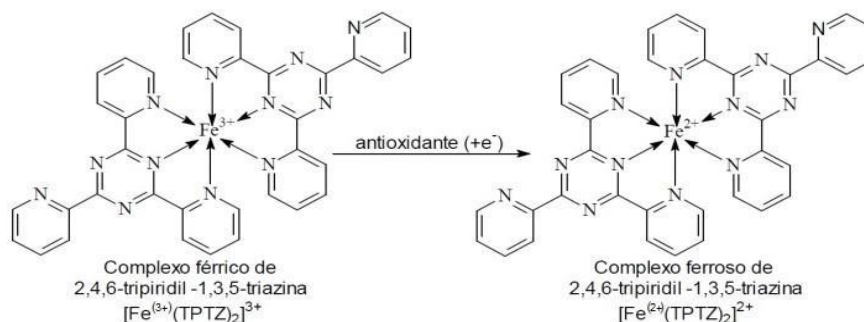
A concentração eficaz para sequestro de 50% dos radicais DPPH (CE₅₀) disponível no meio de reação, foi determinada por meio da equação da reta ($y = a.x + b$) obtida para cada uma das amostras (BLOIS, 1958; LOCATELLI et al., 2009).

3.8 Análise da atividade antioxidante pelo método FRAP

O ensaio FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) foi descrito por Benzie e Strain (1996). O princípio deste método é baseado na capacidade de componentes redutores presentes na amostra reduzirem o ferro (Fe³⁺) para ferro (Fe²⁺), na presença

de 2,4,6-tripiridil-S-triazina (TPTZ), formando um complexo de cor azul intensa ($\text{Fe}^{2+}/\text{TPTZ}$) (Figura 23) e que pode ser medido a 593 nm (BENZIE; STRAIN, 1996).

Figura 23. Redução do complexo férrico $[\text{Fe}^{3+}(\text{TPTZ})_2]^{3+}$ a ferroso $[\text{Fe}^{2+}(\text{TPTZ})_2]^{2+}$, pela ação do antioxidante.



Fonte: CARBONERA, F. (2014).

Para realizar o experimento, o reagente FRAP foi preparado por meio da diluição de uma solução aquosa de TPTZ (2,4,6-tripiridil-S-triazina) a 10 mmol/L em HCl 40 mmol/L, juntamente com cloreto férrico 20 mmol/L, em uma solução tampão de acetato de sódio 300 mmol/L (pH 3,6), seguindo a proporção de 1:1:10 (v/v/v).

As soluções de trabalho FRAP foram preparadas conforme descrito a seguir:

- **Solução TPTZ (2,4,6-tripiridil-S-triazina): 10 mmol/L TPTZ em 40 mmol/L HCl.** Inicialmente foi adicionado 0,156 g de TPTZ Merck a uma mistura composta por 5 mL da solução de HCl 40 mmol/L e 45 mL de água destilada. A solução TPTZ 10 mmol/L obtida foi acondicionada em frasco âmbar, sendo armazenada em refrigeração, por um período de um mês.
- **Solução aquosa de Cloreto Férrico ($\text{Cl}_3\text{FeH}_{12}\text{O}_6$) 20 mmol/L.** Solução preparada imediatamente antes de começar o ensaio. Foram dissolvidos em água ultrapura q.s.p 50 mL, 0,2703 g de cloreto férrico Merck.
- **Solução tampão de acetato de sódio 300 mmol/L.** A partir da dissolução, em água ultrapura, de 0,32 g de acetato de sódio Merck e 3,2 mL de ácido acético glacial Merck, o pH foi ajustado para 3,6 com solução de NaOH 10%.

As amostras utilizadas foram os extratos etanólicos das folhas, bulbo e raiz; ácido ascórbico foi utilizado como controle positivo. Um branco foi realizado com as amostras controles para reduzir a contribuição da cor para a absorbância. A curva

padrão foi construída com cloreto férrico nas concentrações de 10, 50, 150, 250 e 350 μM .

Em uma microplaca de 96 poços foram adicionados 20 μL de cada extrato diluído, 20 μL de água destilada e 150 μL de solução reagente FRAP. Após isso, foi tampado, protegido da luz com papel alumínio e incubado por 8 minutos em temperatura ambiente. Após 8 minutos de incubação, foi realizada a leitura da absorbância em espectrofotômetro da marca Multimode Plate Reader (EnSpire, Perkin-Elmer, Singapore) a 593 nm, utilizando o reagente FRAP como branco. As amostras foram analisadas em triplicata. O resultado do ensaio de FRAP é expresso em equivalentes de Fe^{2+} e a atividade antioxidante foi determinada usando uma curva analítica, obtida por meio da equação $[(B1 + B2) - (B3 + B4)] / 2$ (BENZIE & STRAIN, 1996), e após o cálculo de todas as concentrações foi determinado o gráfico XY por meio da equação da reta.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Rendimento dos extratos e frações

A extração é um processo usado para separar componentes ativos em produtos naturais. Esta etapa envolve a aplicação de solventes orgânicos selecionados com base na ordem crescente de polaridade. Além disso, a extração adequada de produtos naturais é extremamente importante para o estudo químico e biológico, pois permite a identificação e quantificação de diferentes substâncias presentes (BELWAL et al., 2018).

No preparo da amostra, o extrato hexânico foi escolhido com a finalidade de retirar compostos com características apolares (etapa de “desengorduramento”). Em seguida, a utilização de etanol permitiu que os compostos de alta e média polaridade fossem extraídos.

A Tabela 5 apresenta os dados de rendimento dos extratos brutos e frações. O etanol obteve o maior rendimento para a extração das raízes e bulbos, e apresentou boa extração das folhas, similar à água.

Tabela 5. Rendimento dos extratos e frações.

Material vegetal	Massa do material seco (g)	Extrato ou Fração	Massa obtida de extrato (g)	Rendimento (%)
Folha	28,49	F_EH	1,96	6,88
		F_EE	11,77	41,31
		F_FAE	0,01	0,04
		F_FA	12,9	45,28
Bulbo	74,76	B_EH	0,28	0,37
		B_EE	13,16	17,60
		B_FAE	0,01	0,01
		B_FA	11,00	14,71
Raiz	13,43	R_EH	0,31	2,31
		R_EE	0,82	6,11
		R_FAE	0,02	0,15
		R_FA	0,45	3,35

F, B ou R são respectivamente folha, bulbo ou de raiz; EH: extrato hexânico; EE: extrato etanólico; FAE: fração acetato de etila; FA: fração aquosa.

A escolha desta técnica (solventes orgânicos por ordem crescente de polaridade, seguido por extração aquosa ácida) (Figura 16) foi estabelecida para permitir a extração de composto de alta, média e baixa polaridade, bem como possível

conteúdo de alcaloides remanescentes na torta, que não tivessem sido extraídos nos processos anteriores (BELWAL et al., 2018; GOMES-COPELAND et al., 2022).

4.2 Obtenção das frações alcaloídicas

A extração aquosa ácida é um método clássico que permite extrair alcaloides presentes, eliminando, no processo, outros compostos com características físico-químicas diferentes dos alcaloides. Em meio ácido, as bases alcaloidicas são protonadas, facilitando sua solubilização em meio aquoso. A operação de elevação do pH do meio, por sua vez, permite o retorno do alcaloide à sua forma básica, menos polar, que pode ser então extraída do meio aquoso pela utilização de um solvente orgânico, eliminando os compostos solúveis em água (AMIRKIA e HEINRICH, 2014; GOMES et al., 2022).

O método clássico prevê a utilização, para a obtenção de frações alcaloídicas, de solventes clorados, como clorofórmio ou diclorometano (LABRAÑA et al., 2002; DE ANDRADE et al., 2016; CORTES et al., 2018; TRUJILLO-CHACON et al., 2019; GOMES et al., 2022). No presente trabalho, a escolha de acetato de etila para o processo extrativo teve como base trabalhos de outros pesquisadores (DE ANDRADE et al., 2014; COLE et al., 2019). Considerando o aspecto ambiental e ocupacional segurança para o operador, solventes organoclorados tendem a ser substituídos por solventes com menor potencial tóxico (GRODOWSKA e PARCZEWSKI, 2010). Considerando que acetato de etila mostrou-se eficiente para a obtenção de frações semipurificadas de alcaloides, este foi o solvente de escolha nesse trabalho.

A Tabela 6 apresenta os dados de rendimento das frações alcaloídicas obtidas a partir dos extratos etanólicos. A fração alcaloídica acetato de etila (FAAE) das raízes, bulbos e folhas indica um rendimento maior em comparação com as demais amostras.

Tabela 6. Rendimento das frações alcaloídicas obtidas a partir dos extratos etanólicos das folhas, bulbos e raízes de *Zephyranthes irwiniana*.

Extrato etanólico	Fração	Massa (mg)	Rendimento (%)
Folha	F_FAH	53,0	1,06
	F_FAAE	124,7	2,49
	F_FAAEM	11,49	0,23
Bulbo	B_FAH	52,0	1,04
	B_FAAE	113,4	2,27
	B_FAAEM	35,36	0,71
Raiz	R_FAH	49,0	0,98
	R_FAAE	66,8	1,34
	R_FAAEM	14,26	0,29

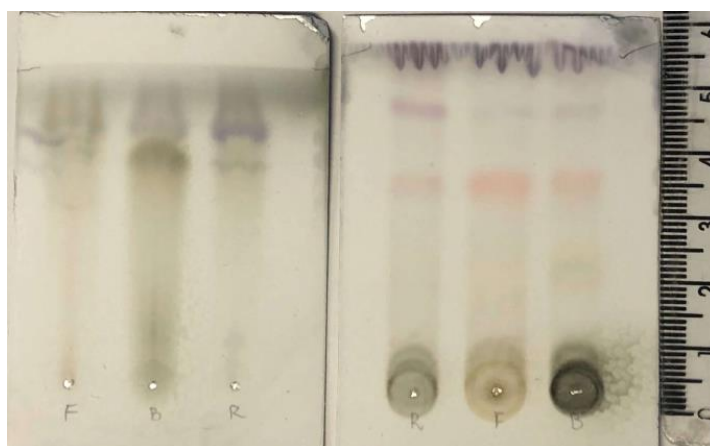
F, B ou R são respectivamente folha, bulbo e raiz; FAH: fração alcaloídica hexânica; FAAE: fração alcaloídica acetato de etila; FAAAEM: fração alcaloídica acetato de etila-metanol. Os rendimentos (%) na extração seletiva de alcalóides, foram calculados a partir dos extratos etanólicos utilizando como peso base a quantidade de 5,0 g.

4.3 Cromatografia em camada delgada (CCD)

A análise do perfil fitoquímico foi realizada por Cromatografia em Camada Delgada (CCD) utilizando reveladores universais, segundo Wagner e Bladt (2001).

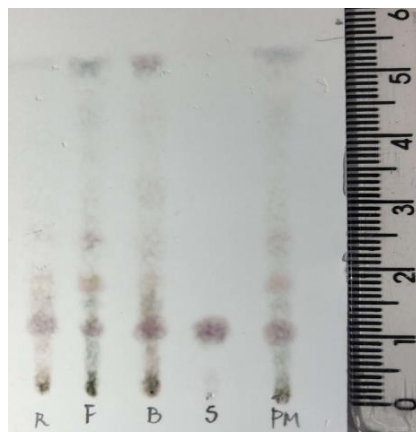
A análise dos extratos etanólicos de raízes, bulbos e folhas após revelação por reagente anisaldeído/sulfúrico, mostrou manchas de cores rósea e violeta, características de compostos terpênicos (Figura 24). A comparação dos extratos com padrão β -sitosterol confirmou a presença desse composto nos três extratos (Figura 25).

Figura 24. Cromatograma, por CCD, do extrato etanólico de folha (F), bulbo (B) e raiz (R) de *Zephyranthes irwiniana*.



Faixas cujo fundo está com mancha cor violeta corresponde placa borrifada com solução reveladora Anisaldeído. Eluente: Metanol/Acetato (8:2) e Diclorometano/Metanol (9:1)

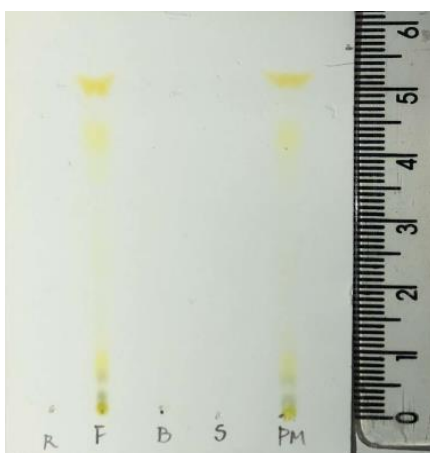
Figura 25. Cromatograma, por CCD, do extrato etanólico da raiz (R), folha (F), bulbo (B), β -sitosterol (S) e ponto misto (PM) de *Zephyranthes irwiniana*.



Faixas cujo fundo está com mancha cor roxo corresponde placa borrifada com solução reveladora Liebermann-Burchard. Eluente: Clorofórmio/Acetato de etila/Metanol (45:40:15)

Nas placas reveladas com Dragendorff, foram observadas bandas de coloração amarelo-alaranjada (Figura 26), indicativas da presença de alcaloides. O reagente Dragendorff é uma solução que contém iodeto de bismuto potássico, composta por nitrato de bismuto básico $[\text{Bi}(\text{NO}_3)_3]$, ácido tartárico e iodeto de potássio. Quando em contato com alcaloides, essa solução forma um precipitado de cor laranja ou vermelho alaranjado (RAAL et al., 2020).

Figura 26. Cromatograma, por CCD, do extrato etanólico da raiz (R), folha (F), bulbo (B), β -sitosterol (S) e ponto misto (PM) de *Zephyranthes irwiniana*.



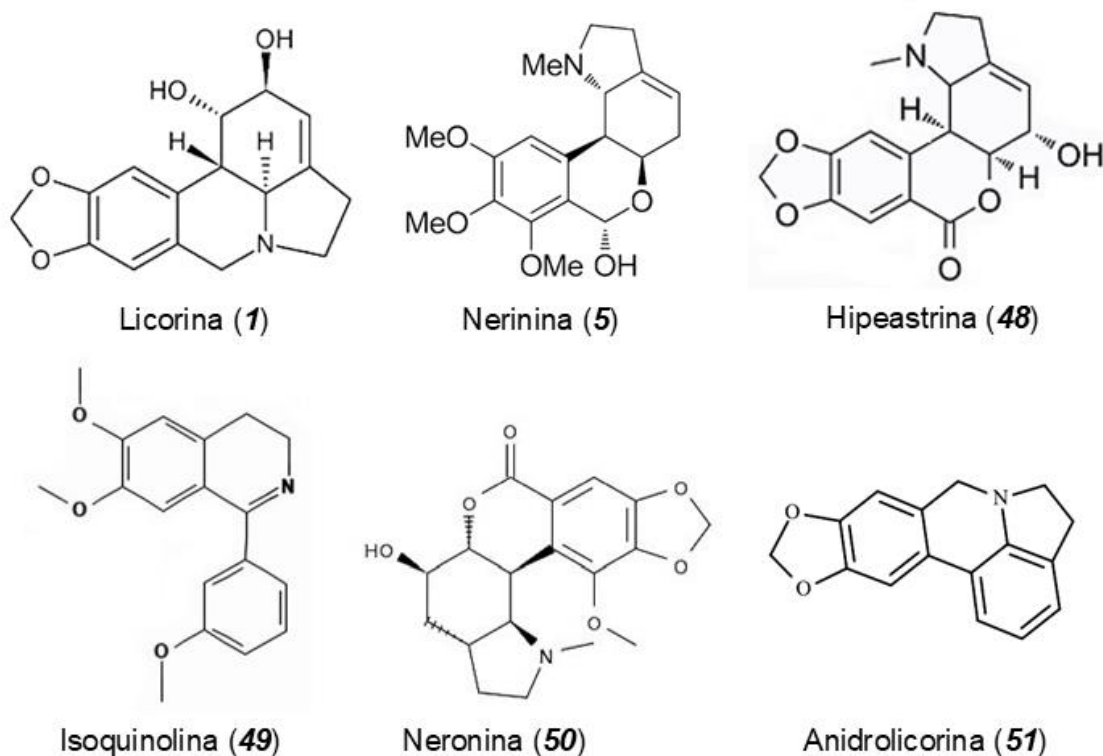
Faixas cujo fundo está com mancha cor amarelo-alaranjada corresponde placa borrifada com solução reveladora Dragendorff. Eluente: Clorofórmio/Acetato de etila (45:40)

4.4 Análise por CG-EM

Para elucidar o perfil químico, os extratos brutos hexânicos (EH) e frações alcaloídicas hexânica (FAH), fração alcaloídica acetato de etila (FAAE) e fração alcaloídica acetato de etila-metanol (FAAEM) obtidos a partir da raiz, bulbo e folha de *Z. irwiniana* foram avaliados por CG-EM. O perfil químico foi estabelecido mediante a análise cromatográfica, como ilustrado nas Figuras 28 a 39, obtendo-se um cromatograma para cada extrato e fração. A identificação foi realizada comparando o índice de retenção de Kovats e o espectro de massas dos compostos com os dados disponíveis na base do *National Institute of Standards and Technology* (NIST), e com informações da literatura, conforme listado na Tabela 8. Para facilitar a manipulação dos dados, os picos exibidos no cromatograma foram enumerados de acordo com a ordem de eluição, incluindo aqueles de baixa intensidade.

Nas frações alcaloídicas foram identificadas 30 substâncias ao todo. A comparação dos espectros de massas com a literatura e com a base de dados do NIST permitiu a caracterização de 6 alcaloides. As estruturas químicas dos alcaloides de *Z. irwiniana* (Amaryllidaceae) estão representadas na Figura 27. A identificação destes alcaloides com os respectivos fragmentos está descrita nas Tabelas 7 e 8.

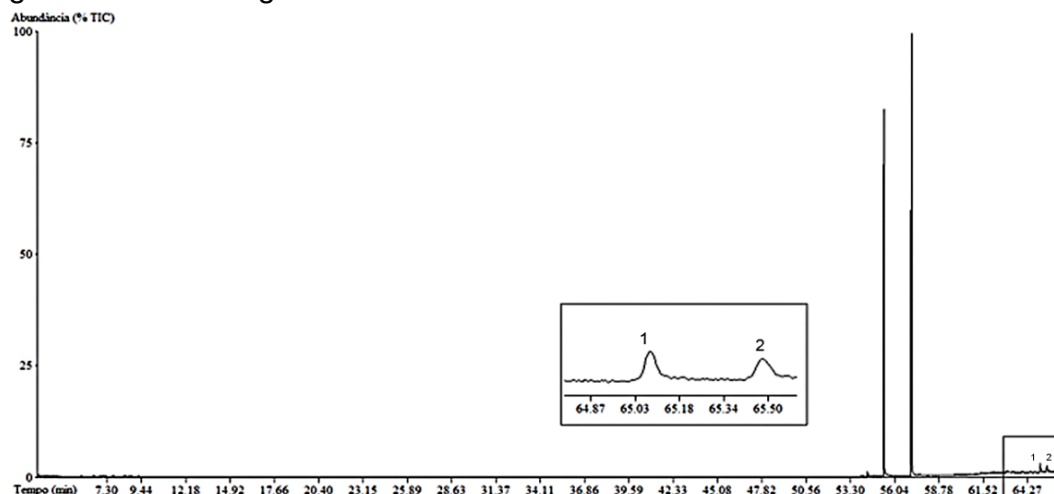
Figura 27: Estruturas químicas dos alcaloides identificados de *Zephyranthes irwiniana* (Amaryllidaceae).



Os componentes do extrato hexânico bruto da raiz (EH_R) foram identificados por meio da comparação de seus espectros de massas (Figura 28) com os disponíveis no banco de dados do equipamento e na literatura, além da análise dos índices de retenção reportados em estudos anteriores. Os sinais desses compostos, exibidos no cromatograma (Figura 28), foram numerados conforme a ordem de eluição.

O composto identificado pelo sinal 1 apresentou um espectro de massas com pico do íon molecular em m/z 377 e índice de retenção de 2732. O sinal 2, identificado como acetato de β -sitosterol, apresentou um espectro de massas com pico do íon molecular em m/z 457, índice de retenção de 2871,1 e fórmula molecular do composto proposto pela biblioteca do NIST como $C_{31}H_{52}O_2$. Dessa forma, foi possível identificar os constituintes do extrato, conforme mostra a Tabela 8, onde foi observado um composto do tipo esteroidal no extrato. Há relatos na literatura sobre as diversas atividades biológicas desses compostos esteroidais, incluindo atividades anti-inflamatória, antitumoral e antifúngica, em testes *in vitro* e *in vivo* (SILVA, 2019). SILVA (2019) relatou a presença de um derivado de esteroide com índice de retenção de 3472,4 no extrato hexânico da espécie *Habranthus irwinianus* (atualmente reclassificada como *Z. irwiniana*).

Figura 28. Cromatograma do extrato hexânico bruto da raiz de *Z. irwiniana* (EH_R).



Dados de abundância expressos em porcentagem de *total ion current* (TIC). 1: Derivado de esteroide; 2: acetato de β -sitosterol.

Na fração alcaloídica hexânica proveniente da raiz (FAH_R), um pico cromatográfico foi identificado como o composto nerinina (**5**). A identificação baseou-se na comparação dos espectros de massas com dados disponíveis na literatura, classificando a substância como um alcaloide do tipo homolicorina (**6**), especificamente nerinina (**5**) (KOHELOVÁ et al., 2021). Desta forma, foi possível a identificação do composto nerinina (**5**), com base no pico do íon molecular com razão de m/z 347 e tempo de retenção de 31,74 minutos e, pela comparação dos índices de retenção de Kovats experimentalmente determinados 2555 com os descritos na literatura (Tabela 7 e 8).

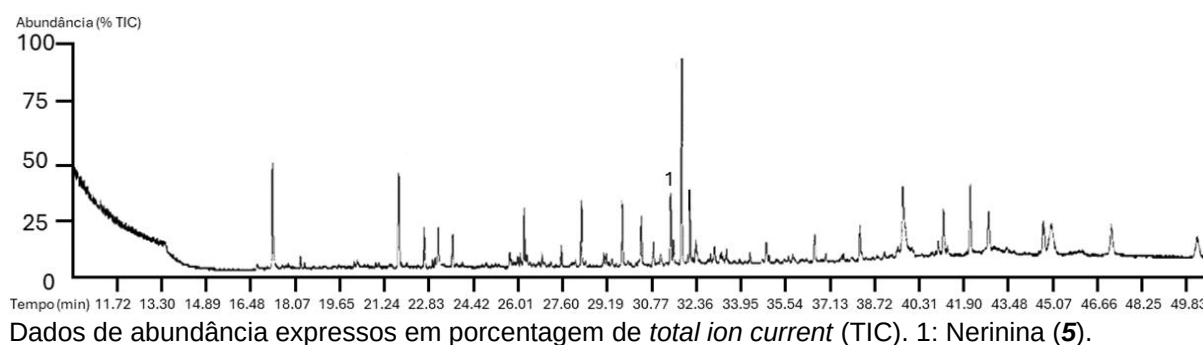
No estudo realizado por Berkov et al. (2020) os alcaloides do tipo homolicorina (**6**) possuem um esqueleto de 15 carbonos, formado pela reconstrução do esqueleto do tipo licorina (**1**) por meio da conversão de norpluviina em licorenina. Existem aproximadamente 80 compostos naturais desse grupo, divididos em duas séries principais, baseadas na saturação da ligação C3–C4. A maioria desses alcaloides, incluindo a homolicorina (**6**), apresenta uma ligação dupla C3–C4 e uma junção de anéis cis-B/C. Contudo, os alcaloides do tipo homolicorina (**6**) podem possuir uma ligação C3–C4 saturada, resultando em três estereoisômeros diferentes: clivonina com junção trans-B/C e cis-C/D de anéis, cliviasina com junção cis-B/C e cis-C/D de anéis, e nobilisina com junção trans-B/C e trans-C/D de anéis.

A Figura 27 apresenta a estrutura da nerinina (**5**) presente na FAH da raiz e fórmula molecular $C_{19}H_{25}NO_5$. As informações espectrais estão de acordo com os

dados conhecidos na literatura, baseados em seus íons fragmentos descritos por LEITE, 2023; KOHELOVÁ et al., 2021 e BESSA et al., 2017. O cromatograma está ilustrado na Figura 29.

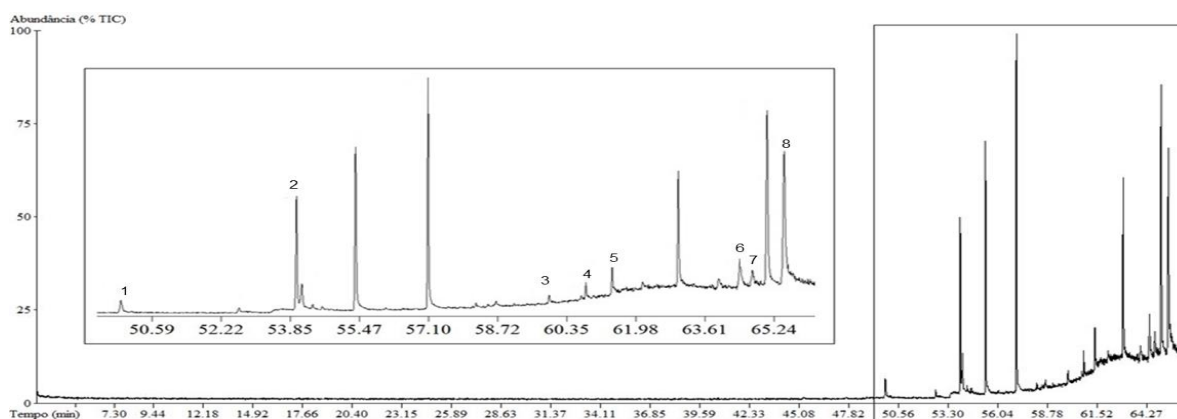
Vicente (2016) relatou um estudo com uma espécie da família Amaryllidaceae, no qual isolou a nerinina (**5**) a partir de frações hexânicas de bulbos de *Hippeastrum canastrense* (Amaryllidaceae), identificando-a por meio de RMN e CG-EM. No entanto, MARTINEZ-PEINADO et al. (2022) descreveram que a nerinina apresenta atividade antiprotozoária fraca. Além disso, Kohelová et al. (2021) relataram que a nerinina é inativa em testes de inibição de AChE/BUChE, com resultados superiores a 100 µM, exibindo atividade apenas no ensaio POP, com um valor de 190 µM.

Figura 29. Cromatograma fração alcaloídica hexânica da raiz de *Z. irwiniana* (FAH_R).



A substância majoritária identificada no extrato hexânico bruto do bulbo (EH_B) foi o β -sitosterol (Tabela 8), comumente encontrado em plantas. O espectro de massas apresentou um pico do íon molecular com razão m/z 415, fórmula molecular $C_{29}H_{50}O$. As informações espectrais estão de acordo com os dados previamente conhecidos na literatura com base em seus íons fragmentos, conforme descritos por El-Feky e El-Rashedy, 2023 e Gomes et al., 2022. O cromatograma obtido está ilustrado na Figura 30. Em experimentos com animais, foi demonstrado que uma dieta nutricional contendo fitoesteróis, principalmente β -sitosterol, reduz a progressão e disseminação de células cancerígenas, além de diminuir a incidência de câncer de cólon, mama e próstata em animais expostos a vários carcinógenos (KHAN et al., 2022).

Figura 30. Cromatograma do extrato hexânico do bulbo de *Z. irwiniana* (EH_B).

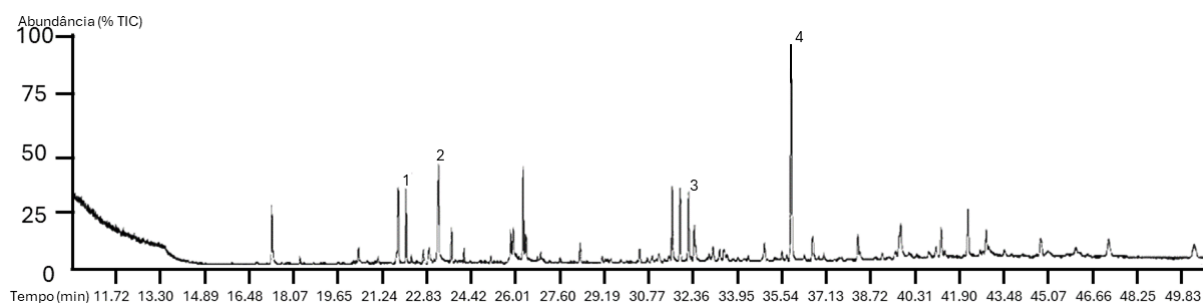


Dados de abundância expressos em porcentagem de *total ion current* (TIC). 1: Decanoato de etila; 2 ao 7 Composto não identificado; 8: β -sitosterol.

Na fração alcaloídica hexânica proveniente do bulbo (FAH_B), também foi identificado o alcaloide Nerinina (**5**), do tipo homolicorina (**6**) (KOHELOVÁ et al., 2021) conforme ilustrado na Figura 27 e mencionado nesta seção.

Além disso, foram identificados 1-hexadecanol, para o qual o espectro de massas apresentou um pico do íon molecular com razão m/z 242, ácido n-hexadecanoico (pico do íon molecular de m/z 256) e esqualeno, com pico do íon molecular m/z 410 (Tabela 8). A identificação foi realizada por meio da comparação dos padrões de fragmentação dos íons com os dados descritos por Han et al., 2024; El-Feky e El-Rashedy, 2023; Bessa et al., 2017; Chowdhury e Kumar, 2020; Trujillo-Chacón et al., 2019. O cromatograma correspondente está ilustrado na Figura 31.

Figura 31. Cromatograma fração alcaloídica hexânica bulbo de *Z. irwiniana* (FAH_B).



Dados de abundância expressos em porcentagem de *total ion current* (TIC). 1: 1-hexadecanol; 2: Ácido n-hexadecanoico; 3: Nerinina (**5**) e 4: Esqualeno.

A amostra referente ao extrato hexânico bruto da folha (EH_F) não apresentou compostos pertinentes, nos quais não foi possível observar um fragmento

representativo. Assim, impossibilitando a apresentação de seus resultados quanto ao perfil fitoquímico.

Tabela 7: Composição química das frações alcaloídicas nas partes aéreas de espécies de *Zephyranthes irwiniana*, após análise de CG-EM.

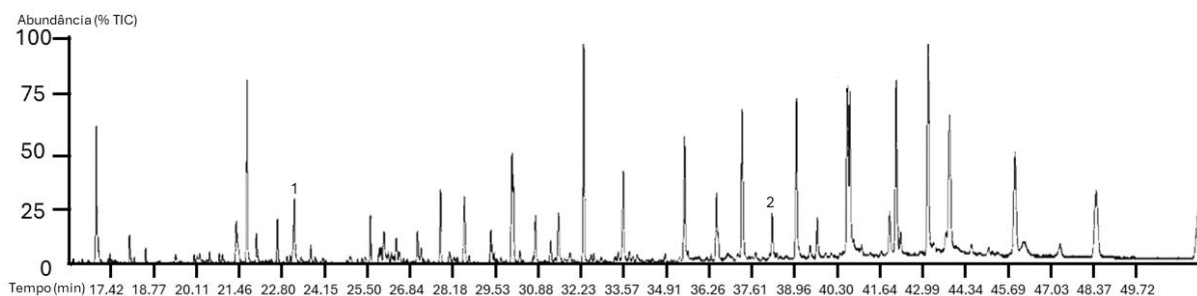
Compostos	M+	Compostos identificados (% TIC)								
		Raiz			Bulbo			Folha		
		A	B	C	A	B	C	A	B	C
Licorina (1)	287	-	43,7	-	-	13,4	-	-	2,91	-
Nerinina (5)	347	11,6	17,7	-	15,2	9,63	-	-	-	-
Hipeastrina (48)	315	-	-	12,6	-	-	-	-	-	16,2
Isoquinolina (49)	297	-	-	-	-	6,01	-	-	-	-
Neronina (50)	345	-	-	-	-	-	27,3	-	-	-
Anidrolícorina (51)	251	-	-	-	-	11,4	-	-	-	-

A: Fração alcaloídica hexânica (FAH); B: Fração alcaloídica acetato de etila (FAAE); C: Fração alcaloídica acetato de etila-metanol (FAAEM). TR: tempo de retenção em minutos (min.). O percentual do *total ion current* (do inglês, *TIC*) de cada metabólito foi indicado para cada fração. A ausência de valores indica que o composto não foi identificado nas condições de análise.

Na fração alcaloídica hexânica proveniente da folha (FAH_F), identificou-se o ácido palmítico (ácido n-hexadecanoico) com espectro de fragmentação apresentando pico do íon base em 256 m/z (Tabela 8).

Silva (2016) apresentou o perfil do extrato metanólico dos bulbos de *C. americanum* (Amaryllidaceae), que exibiu picos correspondentes a substâncias como ácido palmítico (ácido n-hexadecanoico), também identificados por meio de métodos como o CG-EM. Além disso, identificou δ -tocoferol (vitamina E), cujo espectro de massas apresentou um pico do íon molecular com razão m/z de 402. A família da vitamina E, que inclui tocoferóis (α -, β -, γ -, δ -) e tocotrienóis (α -, β -, γ -, δ -), é um grupo significativo de compostos fenólicos, conhecidos por suas fortes propriedades antioxidantes e anticancerígenas (FATIMA et al., 2021). O cromatograma está ilustrado na Figura 32.

Figura 32. Cromatograma da fração alcaloídica hexânica folha de *Z. irwiniana* (FAH_F).



Dados de abundância expressos em porcentagem de *total ion current* (TIC). 1: Ácido n-hexadecanoico; 2: δ -tocoferol.

Na fração alcaloídica acetato de etila raiz (FAAE_R), foi identificado o alcaloide nerinina (**5**), do tipo homolicorina (**6**) (KOHELOVÁ et al., 2021), no tempo de retenção de 31,09 minutos, conforme ilustrado na Figura 27. O espectro de massas apresentou um pico do íon molecular com razão m/z 347, conforme mencionado na Tabela 8 e citado nesta seção.

Além disso, foi identificado um composto proposto como licorina (**1**), tempo de retenção de 35,15 minutos, com espectro de massas apresentando pico do íon molecular com razão m/z 287 pela comparação dos índices de retenção de Kovats experimentalmente determinados 2263 com os descritos na literatura (Tabela 8) e fórmula molecular $C_{16}H_{17}NO_4$. O esqueleto do tipo licorina (**1**), composto por 15 carbonos, é formado a partir de um acoplamento oxidativo orto-para' de fenol de norbeladina (**8**) (BERKOV et al., 2020). Segundo Berkov et al. (2020), são conhecidos aproximadamente 119 alcaloides do tipo licorina (**1**), dos quais 74% podem ser analisados por CG-EM.

A Figura 27 apresenta a estrutura da licorina (**1**), a qual está presente na FAAE da raiz enquanto o cromatograma proposto está ilustrado na Figura 33. As informações espectrais correspondem aos dados disponíveis na literatura, baseados em seus íons fragmentos descritos por Leite (2023); Gomes et al., (2022); Kohelová et al., (2021); Gasca et al., (2020); Nováková, 2015; Trujillo-Chacón et al., 2019, além do padrão de fragmentação de licorina (**1**) disponível na biblioteca NIST.

Nesse contexto, os alcaloides do tipo licorina (**1**) possuem características determinantes para sua identificação. O pico do íon molecular aparece com uma intensidade apreciável de m/z 287, correspondente à sua fórmula molecular $C_{16}H_{17}NO_4$ e apresenta dois picos de íons fragmentos diagnósticos de alcaloides do

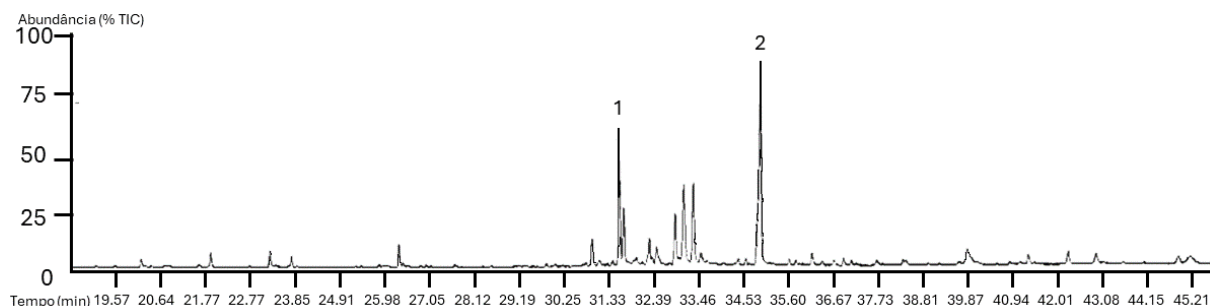
tipo licorina (**1**) em m/z 227 e 226, correspondentes a $C_{14}H_{13}NO_2$ e $C_{14}H_{12}NO_2$, devido à perda de $C_2H_4O_2$ e $C_2H_5O_2$, respectivamente (KHALIFA et al., 2018). Um exemplo é a presença de um íon $[M+ - 18]$, resultante da perda de água a partir do íon molecular depende da estereoquímica do grupo hidroxila em C-2. Na licorina (**1**), observa-se um fragmento com m/z 269 (Figura 34). O fragmento mais abundante e estável para esse tipo de molécula é indicado pela sua maior presença, sendo atribuído a estruturas ressonantes (CORREA OTERO, 2020).

De acordo com Jílec (2015), a licorina (**1**) possui diversos efeitos farmacológicos, incluindo atividade antiviral, anti-inflamatória, antibacteriana, antiparasitária, antimalárica, antifúngica e, principalmente, citotóxica. Entre os alcaloides, os do tipo licorina são considerados dos mais conhecidos e eficazes em termos de citotoxicidade. A licorina induz apoptose em células tumorais, inibindo sua proliferação, e apresenta atividade inibitória significativa contra a topoisomerase de DNA, essencial para o crescimento de células cancerígenas. Embora tenha uma atividade inibitória relativamente fraca contra a AChE, sua grande vantagem é a baixa toxicidade e a ocorrência reduzida de efeitos colaterais. Contudo, alguns derivados da licorina também mostram potencial como medicamentos para a Doença de Alzheimer (DA).

Assim, desde o primeiro relato sobre a promissora atividade dos alcaloides de licorina (**1**) em células tumorais, muitos artigos foram publicados detalhando os efeitos citotóxicos desses alcaloides (NAIR et al., 2016). Este alcaloide demonstra potencial como anticancerígeno, mostrando eficácia contra linhagens celulares de leucemia promielocítica aguda, hepatocarcinoma e leucemia monocítica aguda, com valores de IC_{50} notavelmente baixos (RIBEIRO, 2022). Berkov et al. (2020) também relataram que os alcaloides dos tipos licorina têm sido empregados como moléculas principais em pesquisas focadas no combate ao câncer.

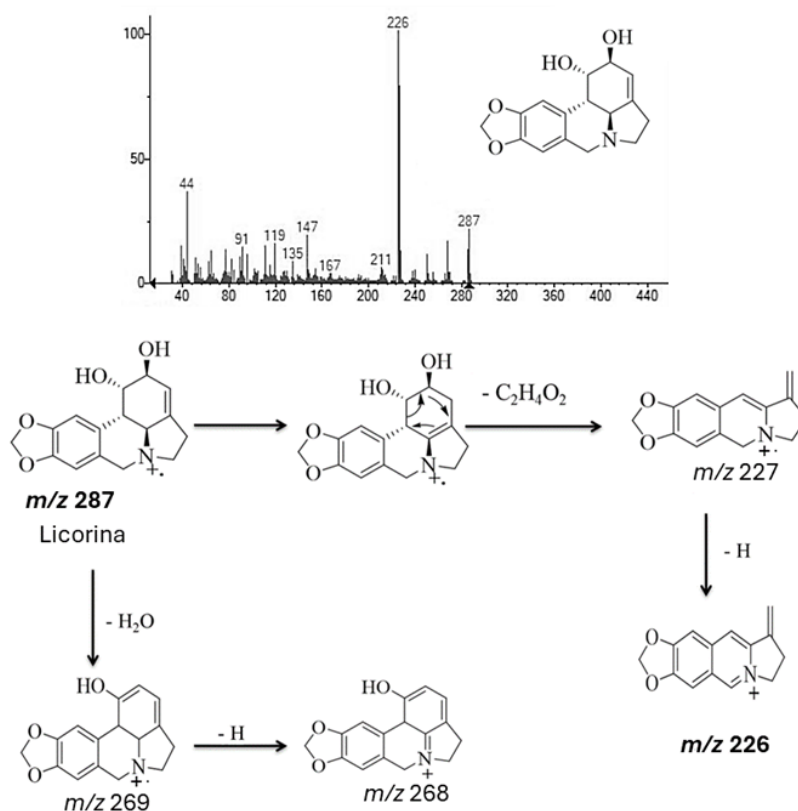
Gomes et al. (2022) isolaram o alcaloide licorina (**1**) de extratos e frações de folhas e bulbos de *C. americanum* (Amaryllidaceae) identificando-o por meio de métodos como ressonância magnética nuclear (RMN) e espectrometria de massas. Além disso, todos os extratos e frações inibiram a atividade da AChE.

Figura 33. Cromatograma fração alcaloídica acetato de etila da raiz de *Zephyranthes irwiniana* (FAAE_R).



Dados de abundância expressos em porcentagem de *total ion current* (TIC). 1: Nerinina (**5**); 2: Licorina (**1**).

Figura 34. Espectro de massas e fragmentação proposta para o alcaloide licorina.



Espectro de massas e mecanismo fragmentação para os principais íons do espectro de massa, justificando a proposta de identificação para o composto licorina (**1**).

Na fração alcaloídica acetato de etila bulbo (FAAE_B), foram identificados os fragmentos mais importantes, além do TIC, no espectro de massas (Figura 35). Os compostos identificados incluem os alcaloides nerinina (**5**), licorina (**1**), anidrolícorina (**51**) e isoquinolina (**49**). Os alcaloides nerinina (**5**), licorina (**1**), já foram mencionados anteriormente nesta seção.

O composto identificado como alcaloide anidrolícorina (**51**), é um alcaloide do tipo licorina (**1**) (NOVÁKOVÁ, 2015, TRUJILLO-CHACÓN et al., 2019). Apresenta um

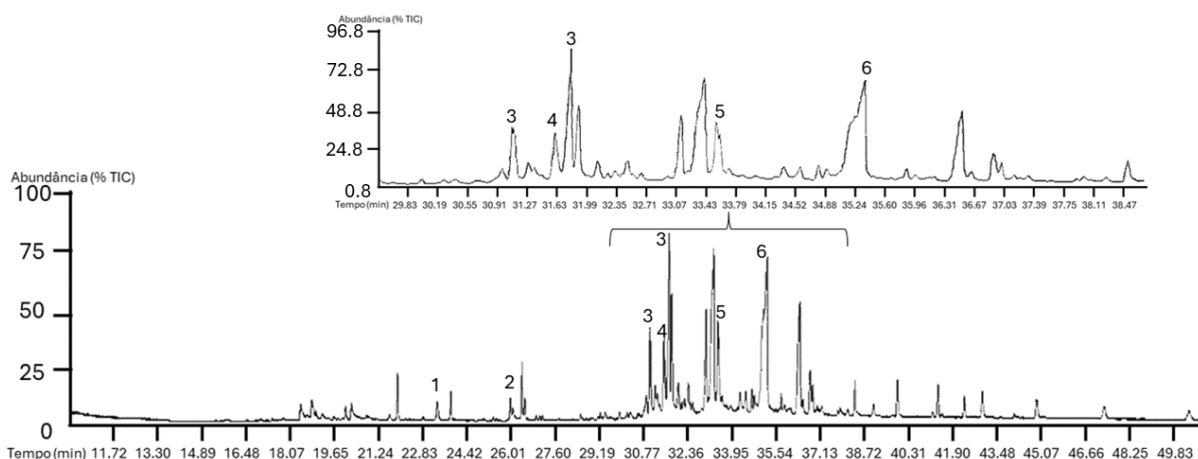
espectro de massas com pico do íon molecular em m/z 251, tempo de retenção de 31,61 minutos e fórmula molecular $C_{16}H_{13}NO_2$. A identificação foi realizada pela comparação dos espectros de massas com dados da literatura, baseados em seus íons fragmentos descritos por Leite, 2016; Martinez-Peinado et al., 2022; Gasca et al., 2020; De Andrade et al., 2014; Trujillo-Chacón et al., 2019 e padrões de fragmentação disponíveis na biblioteca NIST, conforme descrito na Tabela 7 e 8. O cromatograma está ilustrado na Figura 35.

Segundo Nováková (2015), o alcaloide anidrolícorina (**51**) é um dos compostos mais notáveis do ponto de vista biológico. Alcaloides do tipo lícorina (**1**) são os mais conhecidos e eficazes em termos de citotoxicidade.

Além disso, o espectro de massas do ácido n-hexadecanoico apresentou o pico do íon molecular com razão m/z 256 e o ácido linoleico apresentou o pico do íon molecular com razão de m/z 280 conforme mencionado na Tabela 8. As informações espectrais correspondem aos dados disponíveis na literatura, baseados em seus íons fragmentos descritos por El-Feky e El-Rashedy, 2023; Pereira et al., 2005, além do padrão de fragmentação disponível na biblioteca NIST. O cromatograma está ilustrado na Figura 35.

O composto identificado como alcaloide isoquinolina (**49**), apresentou tempo de retenção de 33,60 minutos, com espectro de massas com pico do íon molecular com razão m/z 297 e fórmula molecular $C_{18}H_{19}NO_3$ (Al MAMUN, 2023) (Tabela 7). Os alcaloides isoquinolínicos são considerados um dos tipos mais importantes de alcaloides (QING, et al., 2020). A biossíntese e acumulação dos alcaloides isoquinolínicos estão associadas ao mecanismo de defesa química contra predadores e patógenos, funcionando como uma estratégia de sobrevivência e adaptação. Essa característica ecológica pode estar diretamente relacionada às suas propriedades farmacológicas e biológicas (PLAZAS et al., 2020). No entanto, investigações sistemáticas e abrangentes sobre os comportamentos de fragmentação desses alcaloides raramente foram relatadas (QING, et al., 2020).

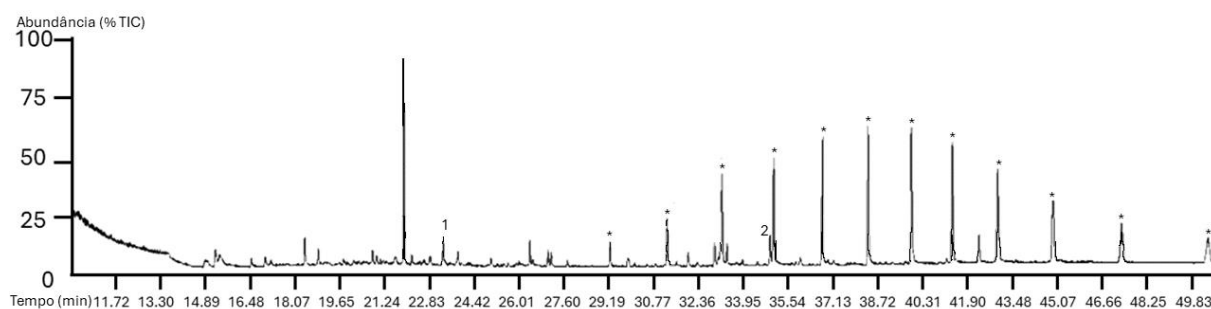
Figura 35. Cromatograma fração alcaloídica acetato de etila bulbo de *Zephyranthes irwiniana* (FAAE_B).



Dados de abundância expressos em porcentagem de *total ion current* (TIC). 1: Ácido n-hexadecanoico; 2: Ácido linoleico; 3: Nerinina (**5**); 4: Anidrolicorina (**51**); 5: Isoquinolina (**49**); 6: Licorina (**1**).

Na fração alcaloídica acetato de etila da folha (FAAE_F) foram identificados o alcaloide licorina (**1**) e o ácido n-hexadecanoico, conforme descrito detalhadamente na seção específica deste trabalho e apresentado na Tabela 8. O cromatograma está ilustrado na Figura 36.

Figura 36. Cromatograma fração alcaloídica acetato de etila bulbo de *Zephyranthes irwiniana* (FAAE_F).



Dados de abundância expressos em porcentagem de *total ion current* (TIC). 1: Ácido n-hexadecanoico; 2: Licorina (**1**); *: Si-O (compostos da coluna).

Na fração alcaloídica acetato de etila metanol raiz (FAAEM_R) foi identificado a presença de três compostos sendo eles: Ácido n-hexadecanoico, β -carbolina e hipeastrina (**48**).

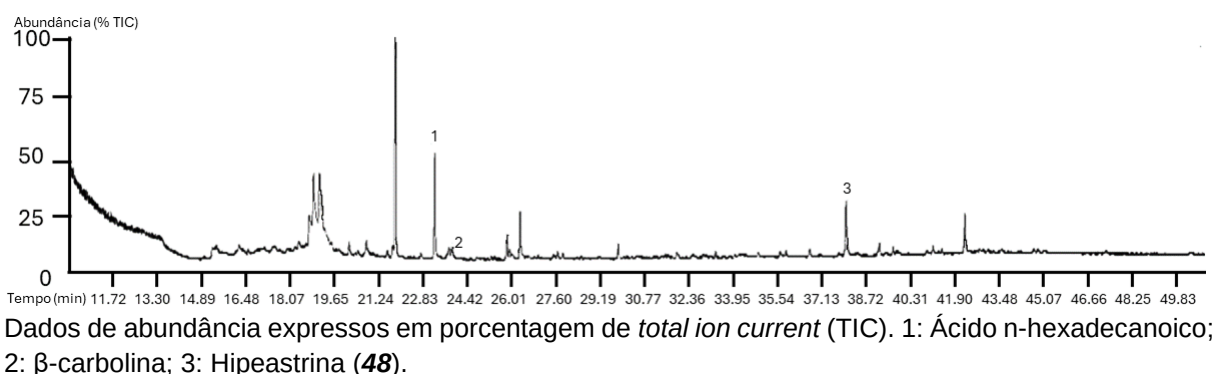
O composto proposto identificado como alcaloide hipeastrina (**48**), é um alcaloide do tipo homolicorina (**6**) (BERKOV et al., 2020; GASCA et al., 2020). Apresenta um espectro de massa com pico do íon molecular com razão m/z 315,

tempo de retenção de 38,23 minutos e fórmula molecular $C_{17}H_{17}NO_5$. A identificação foi realizada pela comparação dos espectros de massas com dados da literatura, baseados em seus íons fragmentos descritos por El-Feky e El-Rashedy, 2023; Herraiz et al, 2023; Pigni et al., 2012; Vicente, 2016, e padrões de fragmentação disponíveis na biblioteca NIST, conforme descrito na Tabela 8. O cromatograma está ilustrado na Figura 37.

Cedron et al. (2015), realizaram um estudo onde avaliaram sete alcaloides naturais da família Amaryllidaceae, incluindo a hippeastrina (**48**), contra quatro linhagens de células tumorais humanas de ovário A2780, pulmão SW1573, mama T47-D e cólon WiDr. O objetivo foi investigar a relação estrutura-atividade. Em relação à hippeastrina, a modificação do grupo lactona e a introdução de um átomo de nitrogênio conferiram seletividade e maior atividade na molécula derivada para as linhagens T47-D e WiDr.

Em outro estudo, Vicente (2016) isolou a hippeastrina (**48**) a partir de diferentes frações hexânicas dos bulbos de *Hippeastrum canastrense* (Amaryllidaceae), utilizando, para identificar essa substância, métodos como RMN e espectrometria de massas. Além disso, o estudo indicou que a hippeastrina (**48**) possui atividade citotóxica contra células fibroblásticas não-tumorais, atuando como agente antiviral contra o vírus *Herpes simplex* tipo 1 e demonstrou considerável eficácia como agente antifúngico contra a *Candida albicans*.

Figura 37. Cromatograma fração alcaloídica acetato de etila metanol raiz de *Zephyranthes irwiniana* (FAAEM_R).

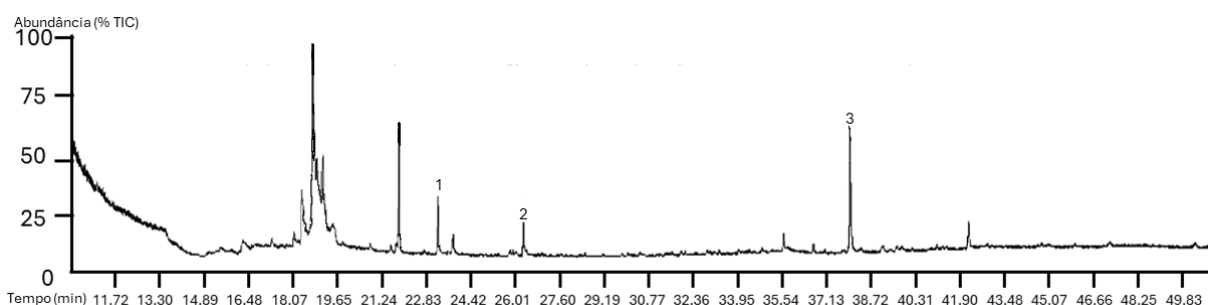


Na fração alcaloídica acetato de etila-metanol de bulbo (FAAEM_B) foi identificada a presença de três compostos sendo eles: ácido n-hexadecanoico, ácido octadecanoico e neronina (**50**).

O composto proposto como neronina (**50**), é um alcaloide do tipo homolicorina (**6**), com tempo de retenção de 38,24 minutos (BRIGGS et al., 1956). Apresenta um espectro de massas com íon molecular com razão de m/z 345 e fórmula molecular $C_{18}H_{19}NO_6$. A Figura 27 apresenta a estrutura da neronina (**50**) presente na FAAEM do bulbo. A identificação foi realizada pela comparação dos espectros de massas com dados da literatura, baseados em seus íons fragmentos descritos por El-Feky e El-Rashedy, 2023; Herraiz et al., 2023; Berkov et al., 2023, e padrões de fragmentação disponíveis na biblioteca NIST, conforme descrito na Tabela 8. O cromatograma está ilustrado na Figura 38.

De acordo com Bhowmick et al., 2023 o surto de Covid-19, causado pelo vírus SARS-CoV-2, continua a representar uma ameaça significativa à saúde global, exigindo novos tratamentos. Foi realizada uma triagem virtual de 1016 alcaloides de Amaryllidaceae contra a protease principal do SARS-CoV-2 (M pro) e a protease serina transmembrana 2 (TMPRSS2), utilizando o software AutoDock Vina e simulações de dinâmica molecular. Os compostos galantamina (**4**), licorenina e neronina (**50**) mostraram forte afinidade de ligação com as proteínas virais e do hospedeiro, sendo considerados potenciais agentes antivirais para o desenvolvimento de medicamentos contra o SARS-CoV-2. Esses compostos precisam de avaliação pré-clínica e clínica adicional para validação.

Figura 38. Cromatograma fração alcaloídica acetato de etila metanol bulbo de *Z. irwiniana* (FAAEM_B).

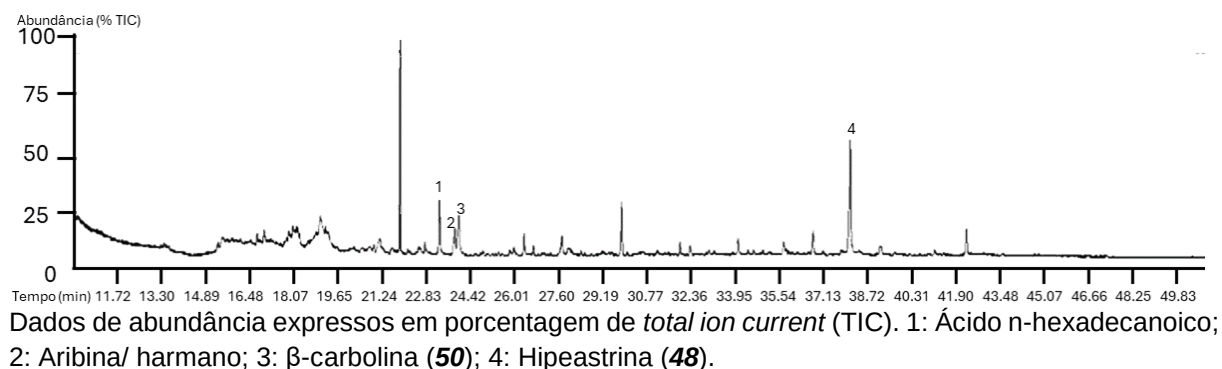


Dados de abundância expressos em porcentagem de *total ion current* (TIC). 1: Ácido n-hexadecanoico; 2: Ácido octadecanoico; 3: Nenorina (**50**).

Na fração alcaloídica acetato de etila-metanol de folhas (FAAEM_F) foram identificados quatro compostos sendo: ácido n-hexadecanoico, aribina/ harmano, β -carbolina e hipeastrina (**48**). conforme detalhado na seção deste trabalho e apresentado na Tabela 8. As informações espectrais estão de acordo com os dados

já conhecidos na literatura (EL-FEKY e EL-RASHEDY, 2023; HERRAIZ et al., 2023; BERKOV et al., 2023). O cromatograma está ilustrado na Figura 39.

Figura 39. Cromatograma fração alcaloídica acetato de etila metanol folha de *Z. irwiniana* (FAAEM_F).



Conforme apresentado na Tabela 8, licorina foi detectada em todos FAAE, enquanto a nerinina (**5**) foi identificada tanto na FAAE quanto na FAH do bulbo e da raiz. As variações observadas nas amostras podem ser atribuídas a diversos fatores variáveis, como diferenças nas épocas de colheita, nos locais específicos de coleta, nas características do solo, nas variedades botânicas ou nos quimiotipos distintos relacionados às espécies analisadas (REIS et al., 2019). Como exemplo, Akram et al. (2021) investigaram como a idade dos bulbos (1, 2 e 3 anos) e o local de cultivo influenciam os teores de quatro alcaloides, incluindo galantamina, em *Narcissus pseudonarcissus* cv. Carlton, utilizando CG-DIC (Cromatografia Gasosa com Detector de Ionização de Chama). Os resultados mostraram que a idade dos bulbos afeta significativamente os teores de três dos quatro alcaloides, com maiores quantidades de galantamina e licorenina em bulbos de 2 anos e maiores teores de homolicorina e haemantamina em bulbos de 1 e 3 anos, respectivamente. Não houve variação significativa nos teores de alcaloides entre os quatro locais de cultivo investigados (Lisse e Noordwijk, na Holanda, e dois locais em Lincolnshire, no Reino Unido), embora Lisse tenha apresentado o maior teor de galantamina, possivelmente devido ao tipo de solo e à composição de nutrientes de cada região. Portanto, a idade do bulbo é um fator crucial para a produção industrial de alcaloides, podendo influenciar os rendimentos em até 10-15%.

Tabela 8. Compostos identificados em extrato hexânico e frações de *Zephyranthes irwiniana*.

	Extrato	TR	Match	M+	Kovats	Composto NIST	Fórmula	Fragmentação	Referência
RAIZ	HEX	65,07	804	377	2732	Ester butil heptadecila de ácido sulfuroso	C ₂₁ H ₄₄ O ₃ S	57 (100), 71 (81), 43 (61), 85 (57), 55 (29), 69 (27), 83 (26), 97 (25), 41 (23), 70 (19)	SELVAKUMAR et al., 2015.
		65,48	799	457	2871	Acetato de β-sitosterol	C ₃₁ H ₅₂ O ₂	43 (100), 41 (90), 55 (76), 81 (73), 105 (66), 91 (64), 69 (63), 145 (62), 95 (61), 67 (56)	EL-FEKY e EL-RASHEDY, 2023
	FAH	31,74	751	347	2555	Nerina	C ₁₉ H ₂₅ NO ₅	109 (100), 108 (93), 110 (89), 329 (59), 221 (42), 43 (42), 94 (40), 71 (39), 69 (34), 213 (33)	BESSA et al., 2017.
	FAAE	31,09	723	347	2555	Nerina	C ₁₉ H ₂₅ NO ₅	109 (100), 108 (93), 110 (89), 329 (59), 221 (42), 43 (42), 94 (40), 71 (39), 69 (34), 213 (33)	BESSA et al., 2017.
		35,15	884	287	2263	Licorina	C ₁₆ H ₁₇ NO ₄	226 (100), 227 (73), 268 (25), 287 (23), 250 (16), 286 (15), 147 (10), 228 (9), 77 (8), 135 (8)	GASCA et al., 2020.
	FAAEM	23,35	872	256	1960	Ácido n-hexadecanoico	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	73 (100), 43 (93), 60 (89), 41 (59), 129 (42), 57 (42), 55 (40), 71 (39), 69 (34), 213 (33)	EL-FEKY e EL-RASHEDY, 2023
		23,96	759	168	1633	β-Carbolina	C ₁₁ H ₈ N ₂	168 (100), 43 (45), 44 (20), 84 (17), 140 (17), 70 (16), 141 (15), 114 (12), 40 (11), 113 (11)	HERRAIZ et al, 2023
		38,23	751	315	2569	Hipeastrina	C ₁₇ H ₁₇ NO ₅	125 (100), 96 (28), 124 (9), 126 (9), 44 (7), 42 (5), 43 (4), 81 (4), 207 (4), 82 (3)	PIGNI et al., 2012.
BULBO	HEX	49,86	764	200	1381	Decanoato de etila	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	88 (100), 101 (58), 43 (43), 55 (34), 69 (28), 67 (27), 70 (26), 73 (22), 57 (21), 56 (15)	SILVA, 2014.
		65,47	803	415	3173	β-Sitosterol	C ₂₉ H ₅₀ O	43 (100), 81 (87), 55 (84), 91 (78), 41 (79), 105 (68), 69 (64), 107 (63), 79 (61), 145 (59)	EL-FEKY e EL-RASHEDY, 2023.
	FAH	22,20	898	242	1881	1-Hexadecanol	C ₁₆ H ₃₄ O	83 (100), 69 (97), 43 (74), 97 (62), 82 (58), 70 (57), 55 (53), 57 (51), 111 (51), 41 (50)	EL-FEKY e EL-RASHEDY, 2023
		23,40	895	256	1960	Ácido n-hexadecanoico	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	73 (100), 43 (66), 60 (40), 41 (47), 129 (42), 57 (38), 55 (28), 71 (44), 69 (35), 83 (33)	EL-FEKY e EL-RASHEDY, 2023
		32,44	722	347	2555	Nerina	C ₁₉ H ₂₅ NO ₅	109 (100), 108 (13), 110 (9), 330 (5), 221 (9), 43 (4), 94 (3), 81 (3), 42 (4), 44 (3)	BESSA et al., 2017.
		36,16	901	410	2914	Esqualeno	C ₃₀ H ₅₀	69 (100), 81 (48), 41 (12), 136 (12), 137 (10), 121 (9), 95 (8), 109 (6), 67 (6), 123 (6)	CHOWDHURY e KUMAR, 2020.
		23,35	872	256	1960	Ácido n-hexadecanoico	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	73 (100), 43 (93), 60 (89), 41 (59), 129 (42), 57 (42), 55 (40), 71 (39), 69 (34), 213 (33)	EL-FEKY e EL-RASHEDY, 2023.
	FAAE	26,03	872	280	2134	Ácido linoleico	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	81 (100), 67 (74), 82 (58), 95 (53), 68 (51), 41 (49), 79 (31), 83 (28), 55 (28), 80 (28)	PEREIRA et al, 2005.

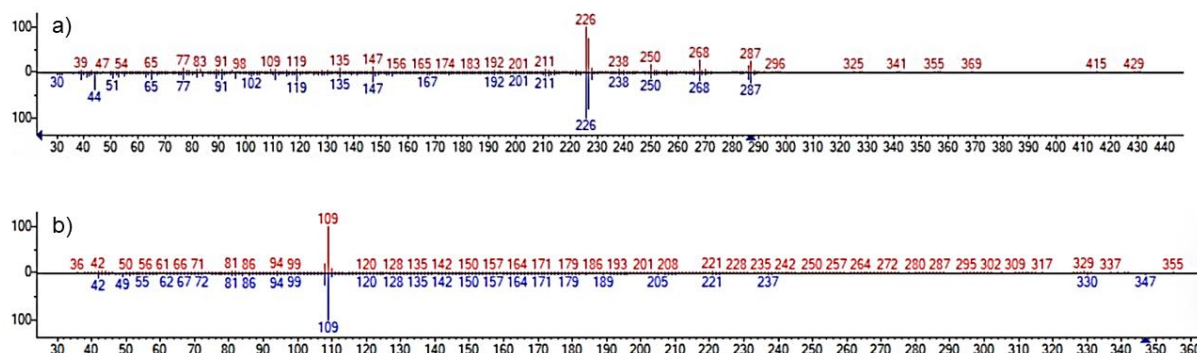
FOLHA		31,07	762	347	2555	Nerina	C ₁₉ H ₂₅ NO ₅	109 (100), 108 (16), 110 (8), 81 (4), 82 (4), 207 (3), 94 (3), 42 (3), 91 (2), 93 (2)	MARTINEZ-PEINADO et al., 2022.
		31,61	773	251	2081	Anidrolcorina	C ₁₆ H ₁₃ NO ₂	250 (100), 251 (50), 125 (20), 95 (17), 192 (15), 191 (11), 96 (10), 83 (8), 82 (7), 81 (7)	DE ANDRADE et al., 2014.
		33,60	736	297	2417	Isoquinolina	C ₁₈ H ₁₉ NO ₃	296 (100), 297 (50), 226 (20), 235 (17), 133 (14), 280 (12), 298 (11), 238 (10), 195 (9), 83 (7)	[1]
		35,36	889	287	2263	Licorina	C ₁₆ H ₁₇ NO ₄	226 (100), 227 (59), 287 (23), 268 (20), 286 (13), 250 (11), 83 (8), 228 (8), 147 (8), 77 (7)	GASCA et al., 2020.
	FAAEM	23,35	844	256	1960	Ácido n-hexadecanoico	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	73 (100), 43 (83), 60 (50), 41 (50), 129 (41), 71 (36), 57 (36), 55 (31), 83 (31), 85 (28)	EL-FEKY e EL-RASHEDY, 2023
		26,44	754	284	2160	Ácido octadecanoico	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	43 (100), 73 (63), 55 (50), 41 (46), 60 (36), 44 (35), 57 (34), 69 (34), 71 (33), 81 (32)	EL-FEKY e EL-RASHEDY, 2023
		38,24	772	345	2758	Neronina	C ₁₈ H ₁₉ NO ₆	125 (100), 96 (30), 126 (6), 81 (4), 124 (4), 44 (3), 42 (3), 43 (3), 82 (3), 94 (3)	BERKOV et al., 2023.
	FAH	23,35	857	256	1960	Ácido n-hexadecanoico	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	73 (100), 43 (77), 41 (52), 71 (46), 129 (45), 83 (43), 85 (42), 60 (41), 57 (35), 55 (32)	EL-FEKY e EL-RASHEDY, 2023
		37,82	833	402	2922	δ-Tocoferol	C ₂₇ H ₄₆ O ₂	137 (100), 402 (83), 177 (54), 138 (30), 136 (27), 43 (25), 403 (19), 69 (13), 41 (13), 83 (11)	HAN et al., 2024.
	FAAE	23,15	872	256	1960	Ácido n-hexadecanoico	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	73 (100), 43 (93), 60 (89), 41 (59), 129 (42), 57 (42), 55 (40), 71 (39), 69 (34), 213 (33)	EL-FEKY e EL-RASHEDY, 2023
		35,05	862	287	2263	Licorina	C ₁₆ H ₁₇ NO ₄	226 (100), 227 (66), 250 (25), 287 (25), 43 (24), 268 (20), 286 (16), 77 (15), 119 (12), 91 (12)	GASCA et al., 2020.
	FAAEM	23,35	812	256	1960	Ácido n-hexadecanoico	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	73 (100), 43 (83), 60 (57), 41 (54), 129 (51), 71 (36), 57 (36), 55 (35), 87 (32), 85 (32)	EL-FEKY e EL-RASHEDY, 2023
		23,91	824	182	1996	Aribina/ Harmano	C ₁₂ H ₁₀ N ₂	182 (100), 181 (40), 154 (23), 77 (19), 91 (17), 183 (17), 43 (13), 127 (12), 155 (8), 113 (6)	EL-FEKY e EL-RASHEDY, 2023
		24,07	839	168	1633	β-Carbolina	C ₁₁ H ₈ N ₂	168 (100), 140 (25), 141 (16), 114 (16), 84 (15), 169 (12), 70 (11), 113 (9), 63 (6), 43 (6)	HERRAIZ et al, 2023
		38,32	791	315	2569	Hipeastrina	C ₁₇ H ₁₇ NO ₅	125 (100), 96 (28), 126 (6), 124 (3), 94 (3), 42 (3), 81 (2), 82 (2), 44 (2), 43 (2)	PIGNI et al., 2012.

HEX: extrato hexânico; FAH: fração alcaloídica hexânica; FAAE: fração alcaloídica acetato de etila; FAAEM: fração alcaloídica acetato de etila-metanol. TR: tempo de retenção em minutos (min.). M+: íon molecular. KOVATS: Índice de Kovats experimental. Os dados de fragmentação estão expressos em valor de relação massa-carga (m/z) seguidos da porcentagem relativa entre parênteses.

[1] - <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/626628#section=Chemical-and-Physical-Properties>

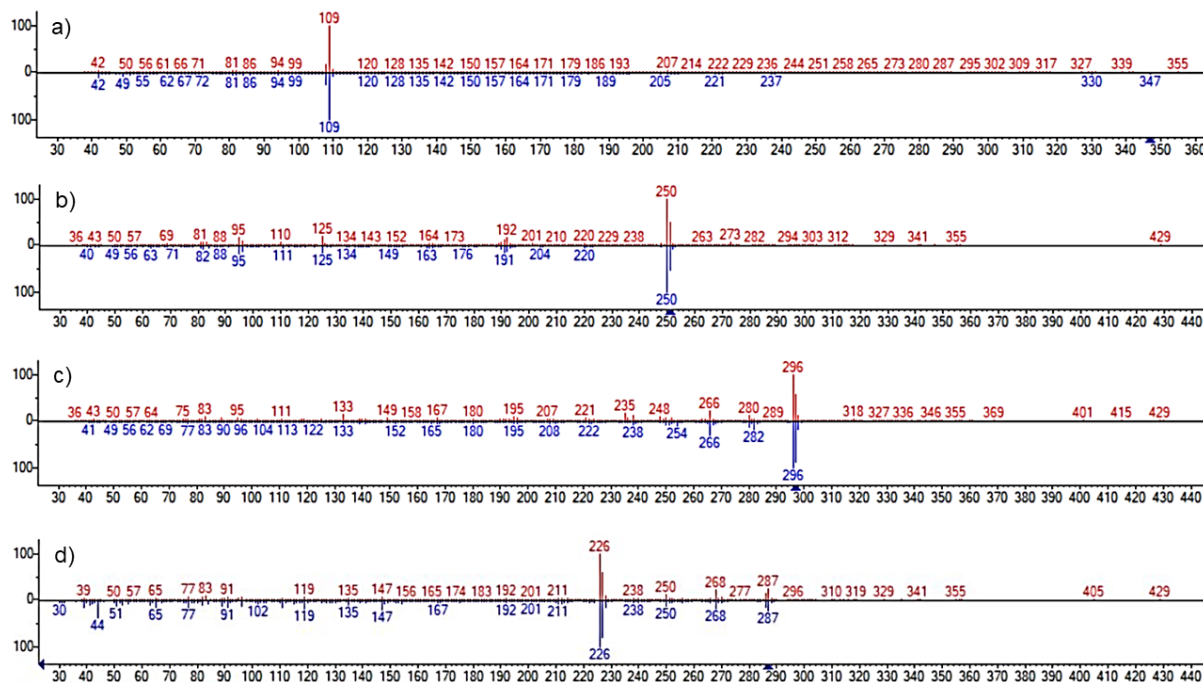
As Figuras 40 a 44 mostram os espectros de massas do sinal com tempo de retenção identificado nas frações alcaloídicas, obtidos por meio de CG-EM.

Figura 40. Espectros de massas do pico em 226 e 109 minutos da FAAE_R.



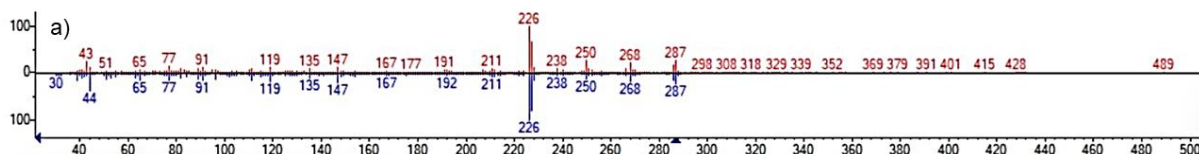
a) licorina (**1**) FAAE_R; b) nerinina (**5**) FAAE_R. Em vermelho, fragmentação da amostra analisada. Em azul, fragmentação disponível na biblioteca do Software NIST MS® SEARCH. FAAE_R: fração alcaloídica acetato de etila da raiz.

Figura 41. Espectros de massas do pico da FAAE_B, em 109, 250, 296 e 226 minutos.



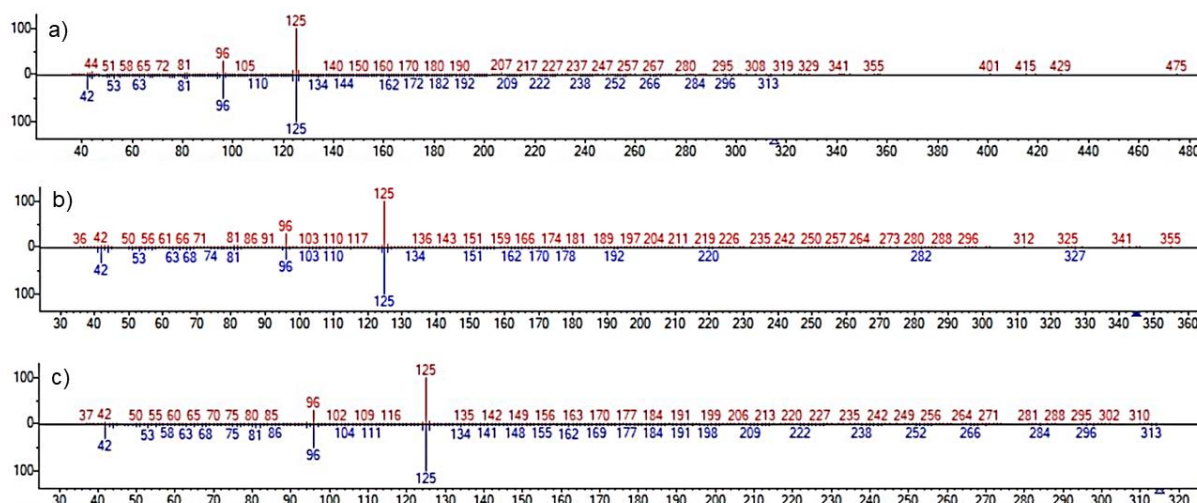
a) nerinina (**5**) FAAE_B; b) anidrolícorina (**51**) FAAE_B; c) isoquinolina (**49**) FAAE_B; d) licorina (**1**) FAAE_B. Em vermelho, fragmentação da amostra analisada. Em azul, fragmentação disponível na biblioteca do Software NIST MS® SEARCH. FAAE_B: fração alcaloídica acetato de etila do bulbo.

Figura 42. Espectros de massas do pico em 226 minutos da FAAE_F.



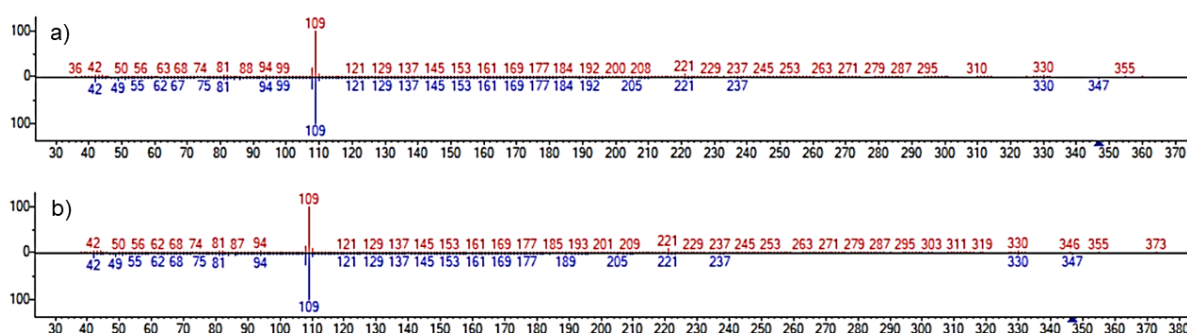
a) licorina (**1**) FAAE_F. Em vermelho, fragmentação da amostra analisada. Em azul, fragmentação disponível na biblioteca do Software NIST MS® SEARCH. FAAE_F: fração alcaloídica acetato de etila da folha.

Figura 43. Espectros de massas do pico em 125 minutos da FAAEM.



a) hipeastrina (**48**) FAAEM_R; b) neronina (**50**) FAAEM_B; c) hipeastrina (**48**) FAAEM_F. Em vermelho, fragmentação da amostra analisada. Em azul, fragmentação disponível na biblioteca do Software NIST MS® SEARCH. FAAEM: fração alcaloídica acetato de etila-metanol; raiz (R); bulbo (B) e folha (F).

Figura 44. Espectros de massas do pico em 109 minutos da FAH.



a) nerinina (**5**) FAH_R; b) nerinina (**5**) FAH_B. Em vermelho, fragmentação da amostra analisada. Em azul, fragmentação disponível na biblioteca do Software NIST MS® SEARCH. FAH: fração alcaloídica hexânica; raiz (R) e bulbo (B).

4.5 Determinação da atividade de inibição da acetilcolinesterase pelos extratos e frações de *Zephyranthes irwiniana*

O interesse pelos alcaloides da família Amaryllidaceae e sua aplicação na inibição da acetilcolinesterase (AChE) têm raízes históricas, datando dos anos 1960. Estudos iniciais, como os conduzidos por Irwin e Smith III, 1960; Irwin et al. (1961), destacaram o potencial de inibição da colinesterase por alcaloides como a galantamina, inicialmente observada a nível muscular. Desde então, a galantamina e outros alcaloides da mesma família continuam a ser de grande interesse devido à sua diversidade e potentes atividades biológicas (JIN; YAO, 2019).

Esse interesse foi reforçado após a aprovação da galantamina pela FDA, em 2001, como tratamento para a DA. Segundo Berkov et al. (2022), até março de 2021, cerca de 2.296 artigos sobre "alcaloides Amaryllidaceae" foram listados no PubMed, com mais de 1.800 deles surgindo após a aprovação pela FDA, refletindo o crescente interesse científico e terapêutico.

Neste estudo, foram avaliados extratos e frações das raízes, bulbos e folhas de *Z. irwiniana*, utilizando o método de ensaio em microplaca descrito por Ellman et al. (1961), com modificações de Lopez (2002), com o intuito de identificar compostos naturais com potencial inibitório sobre a AChE. Os resultados estão apresentados na Tabela 9.

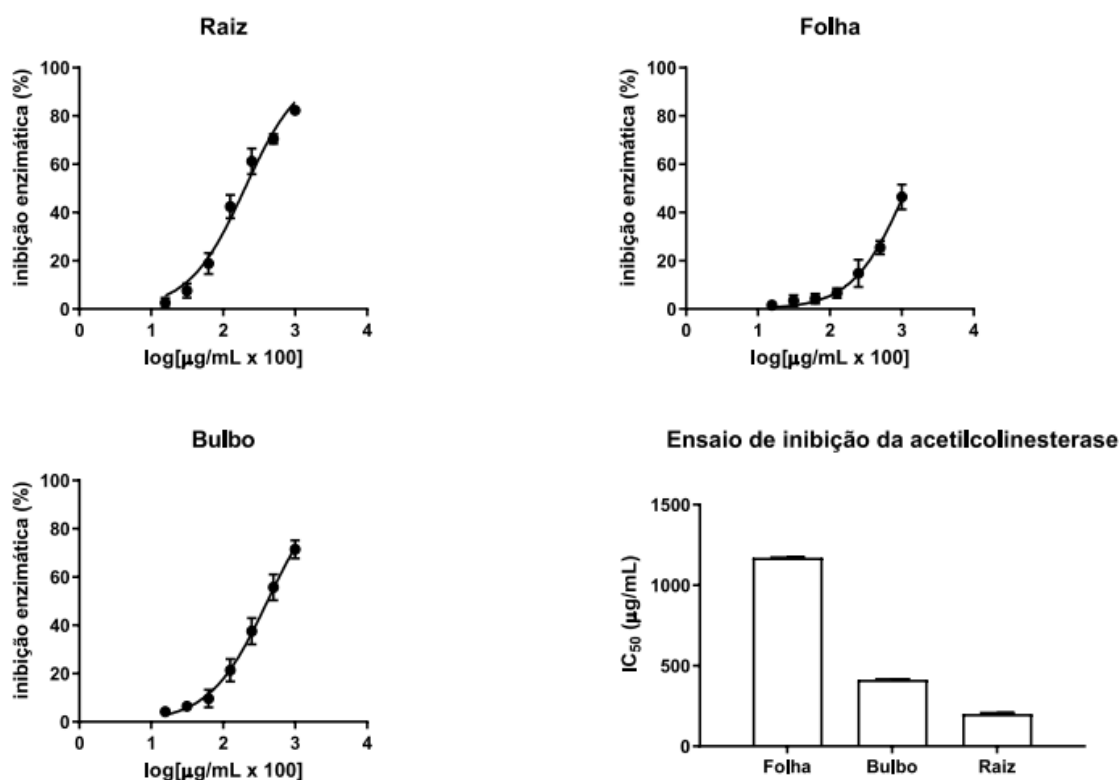
Deve-se considerar que as variações no método de Ellman podem influenciar os valores de IC₅₀ dos compostos avaliados, uma vez que a quantidade de tiocolina formada pode variar de acordo com a fonte e a concentração da enzima (ELLMAN et al., 1961). Por isso, o uso de um controle positivo, como a galantamina, é essencial nos ensaios de inibição da AChE, especialmente em estudos com extratos de plantas Amaryllidaceae (BERKOV et al., 2022).

O presente estudo revelou que os extratos etanólicos obtidos a partir das raízes, bulbos e folhas de *Zephyranthes irwiniana*, demonstraram eficácia na inibição da enzima AChE, com os resultados detalhados na Figura 45. Esses resultados evidenciam o potencial terapêutico dos extratos de *Zephyranthes irwiniana* e sugerem a importância de investigações futuras sobre suas aplicações medicinais.

É relevante destacar que, embora a raiz tenha mostrado atividade significativa, o uso de raízes ou bulbos acarreta a destruição da planta. Nesse contexto, a micropropagação surge como uma estratégia essencial para a preservação das plantas

no ambiente natural, permitindo a continuidade dos estudos sem comprometer a conservação da espécie.

Figura 45. Inibição da acetilcolinesterase por extrato etanólico de raízes, bulbos e folhas de *Zephyranthes irwiniana*.



Gráficos de curva resposta de inibição enzimáticas. Os resultados são de três experimentos independentes de extrato etanólico de raiz, folha e bulbo e o IC₅₀ foi expresso em $\mu\text{g/mL}$. Atividade inibitória expressa em % (mínimo de 3 experimentos independentes, resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão).

A partir dos resultados observados na figura demonstrada acima, é possível concluir que o extrato etanólico obtido a partir da raiz, bulbo e folha de *Zephyranthes irwiniana* foi capaz de inibir a enzima acetilcolinesterase de maneira dependente da concentração. O extrato etanólico somente alcançou valores de inibição enzimática acima de 70% nas maiores concentrações (500 e 1000 $\mu\text{g/mL}$). Galantamina (controle positivo), para o mesmo perfil de atividade, foi ativa nas concentrações 1,25; 2,5 e 5,0 $\mu\text{g/mL}$ (Tabela 9). É importante ressaltar que foi testado um limite de concentração devido à solubilidade das frações, o que impediu a avaliação de concentrações mais elevadas.

Os resultados indicaram que o extrato etanólico da raiz apresentou uma maior capacidade de inibição, com um IC_{50} próximo a 200 $\mu\text{g/mL}$, destacando-se entre as amostras testadas. Por outro lado, os extratos hexânicos e as frações aquosas não apresentaram valores significativos de inibição enzimática, razão pela qual não foram mencionados seus resultados neste estudo. O extrato etanólico da folha não alcançou 50% de inibição mesmo nas maiores concentrações testadas (500 e 1000 $\mu\text{g/mL}$), impossibilitando o cálculo da IC_{50} .

Tabela 9. Atividade inibitória de acetilcolinesterase por extratos etanólicos de *Zephyranthes irwiniana*.

	Amostra	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Extrato Etanólico	Folha	> 1000
	Bulbo	$412,8 \pm 67,9$
	Raiz	$200,1 \pm 29,4$
Galantamina		$0,48 \pm 0,1$

Os dados foram expressos como média $\pm$ desvio padrão (DP) de no mínimo três experimentos independentes.

Apesar de o valor de IC_{50} ser elevado, em comparação com o controle positivo, diversos fatores justificam a continuidade dos estudos, sobretudo do extrato etanólico obtido a partir da raiz de *Zephyranthes irwiniana*. Além disso, é importante reconhecer que extratos contêm uma vasta gama de compostos bioativos que podem atuar sinergicamente para oferecer uma inibição eficaz da acetilcolinesterase.

Os extratos vegetais geralmente são mais acessíveis e econômicos para produzir em larga escala, em comparação com compostos sintéticos complexos, o que representa uma vantagem significativa em termos de viabilidade comercial e acessibilidade, especialmente em regiões com acesso limitado a medicamentos. O estudo sobre esses extratos também promove a valorização da biodiversidade e a conservação de espécies vegetais, acrescentando valor ao patrimônio natural de uma região.

O estudo realizado por Zhan et al. (2023) identificou alcaloides em plantas do gênero *Zephyranthes* com atividade inibitória de AChE, utilizando todos os compostos isolados como base para essa avaliação. De acordo com o autor, os resultados foram

consistentes com os dados de AA relatados em uma revisão anterior de Cahlíková et al. (2021).

Por fim, é relevante considerar que o valor de IC_{50} pode ser melhorado com métodos de fracionamento e isolamento, permitindo identificar e otimizar os componentes ativos do extrato. A continuidade da pesquisa pode levar ao desenvolvimento de inibidores mais potentes e específicos, oferecendo novas opções terapêuticas para o tratamento de doenças neurodegenerativas, como a doença de Alzheimer.

4.6 Caracterização da atividade antioxidante de *Zephyranthes irwiniana*

4.6.1 Método do sequestro do radical livre DPPH[•]

O DPPH[•] é um radical livre, estável, capaz de alcançar estabilidade por meio da ligação com átomos de nitrogênio e/ou por meio da ressonância com os anéis aromáticos presentes em sua estrutura. No método do sequestro do radical livre DPPH[•], a reação pode ocorrer de duas maneiras distintas: através da transferência de elétrons ou de um átomo de hidrogênio. Quando ocorre a transferência do elétron desemparelhado (Figura 46) a solução adquire uma coloração violeta e reage na presença de uma substância antioxidante, gerando a formação de hidrazina de coloração amarela (OLIVEIRA, 2015).

A redução do radical DPPH[•] por compostos antioxidantes promove a diminuição da intensidade desta coloração, lido a 517 nm no espectrofotômetro. Este ensaio é amplamente utilizado para analisar a capacidade antioxidante de compostos devido à sua sensibilidade, precisão, rapidez e simplicidade. Uma das utilizações desse método é a triagem de compostos com potencial a um estudo mais minucioso sobre sua capacidade antioxidante (DAWIDOWICZ et al., 2012; MISHRA et al., 2012).

O ensaio foi originalmente desenvolvido por Blois em 1958 e, posteriormente, modificado por Brand-Williams et al. (1995). Esses pesquisadores introduziram o conceito de concentração eficaz ou CE_{50} , que é a concentração eficiente de uma amostra necessária para sequestrar 50% dos radicais disponíveis no meio de reação. O valor é determinado usando uma regressão linear aplicada à curva de porcentagem do radical DPPH[•] em relação à concentração do antioxidante.

Dessa forma, a capacidade antioxidante das amostras foi avaliada em porcentagem de inibição (%) (Figura 47) e os resultados obtidos de CE_{50} de cada amostra estão apresentados na Figura 49 e Tabela 10. O ácido ascórbico foi usado como controle

positivo no ensaio a 25 µg/mL (92,22% de capacidade de sequestro do DPPH). Nas concentrações analisadas as amostras de extrato etanólico, apresentaram uma atividade antioxidante próximos ao controle positivo (ácido ascórbico).

Tabela 10: Avaliação da capacidade de extratos etanólicos de *Zephyrantes irwiniana* em sequestrar o radical DPPH[•]

	Amostra	Concentração eficaz em 50% -
		CE ₅₀ (µg/mL)
Extrato Etanólico	Folha	41,57 ± 32,2
	Bulbo	33,02 ± 28,4
	Raiz	25,35 ± 26,4
Ácido ascórbico		0,56 ± 0,3

Os dados foram expressos como média ± desvio padrão (DP) de no mínimo três experimentos independentes.

Figura 46. Estabilização do radical DPPH[•] pelo deslocamento do elétron desemparelhado.

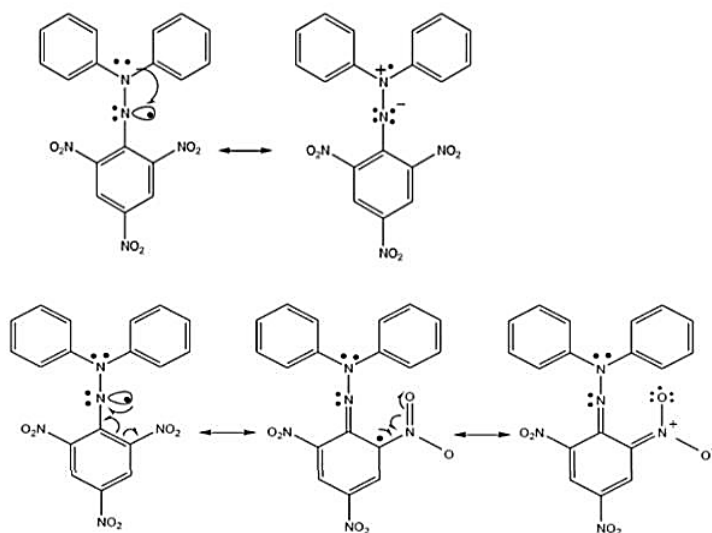


Figura adaptada de Oliveira, G.L.S. (2015).

Com base nos resultados, é possível perceber potencial das amostras em sequestrar o radical livre DPPH[•]. Na Figura 47, observa-se, graficamente, os resultados das análises. No entanto, os extratos hexânicos e as frações aquosas não exibiram

valores significativos de inibição nesta pesquisa, motivo pelo qual seus resultados não foram incluídos neste estudo.

Figura 47. Correlação entre a porcentagem de inibição e a variação de concentração do extrato etanólico de *Zephyranthes irwiniana* (raiz, bulbo e folha).

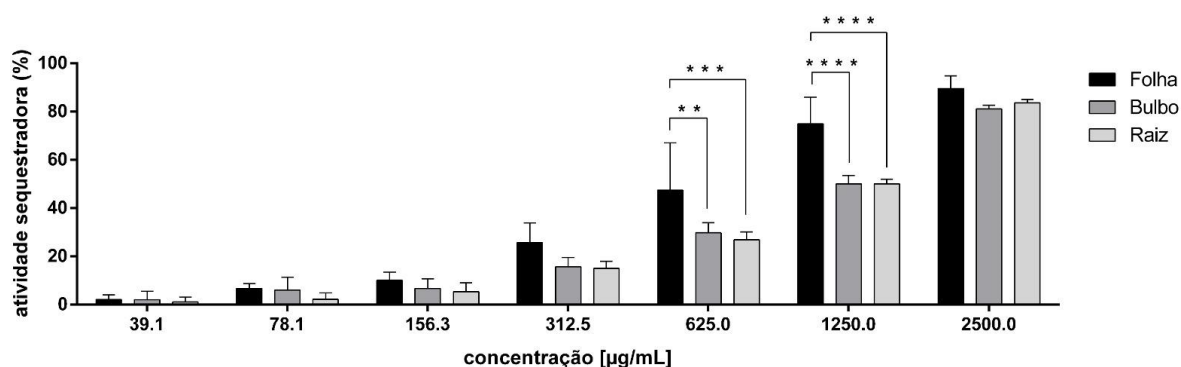
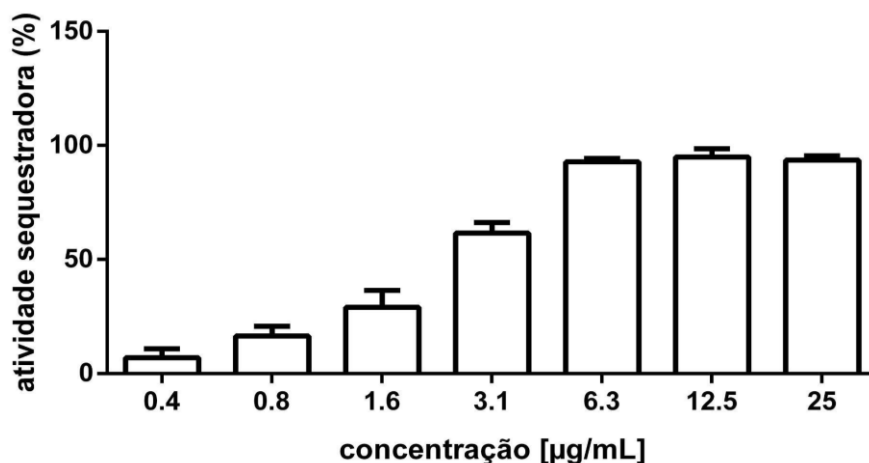


Figura 48. Efeito da atividade do ácido ascórbico (controle positivo) em sequestrar o radical livre DPPH[•] controle positivo: ácido ascórbico.

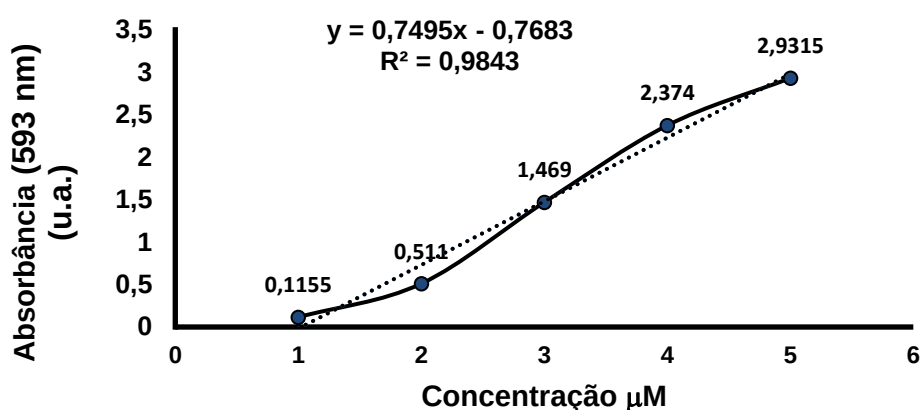


Cabe ressaltar a importância de avaliar a atividade antioxidante com um segundo ensaio. A utilização de métodos distintos propicia uma maior confiança na análise dos mecanismos de defesa antioxidantes (SUZUMURA et al., 1999; CHOI et al., 2002). Os resultados indicam que o aumento da polaridade do solvente eleva o potencial antioxidante do extrato. O extrato etanólico, sendo mais polar, apresenta valores elevados de CE₅₀ para a folha.

4.6.2 Avaliação do poder de Redução do íon férrico (*Ferric Reducing Antioxidant Power, FRAP*)

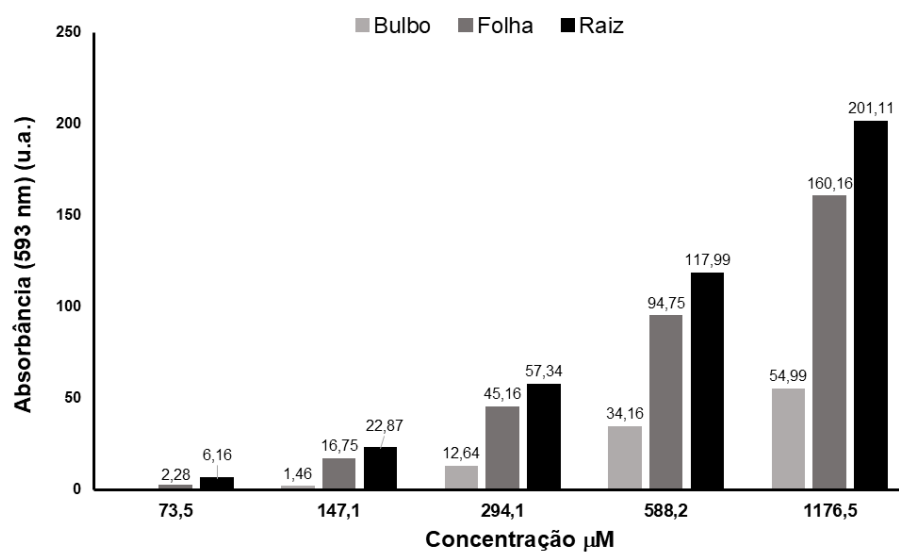
O ensaio FRAP foi empregado para avaliar o potencial redutor do extrato etanólico, medido pelo seu poder de reduzir íons férrico (Fe^{3+}) a ferroso (Fe^{2+}). Para quantificar a capacidade antioxidante por meio deste ensaio, é necessário construir uma curva de calibração, a qual é apresentada na Figura 49, evidenciando uma boa correlação linear entre a absorbância e a concentração do padrão de referência, com coeficiente de determinação ($R^2 = 0,9843$).

Figura 49. Curva de calibração da solução de sulfato ferroso no ensaio TPTZ (2,4,6-tripiridil-S-triazina). Correlação entre a absorbância do sulfato ferroso a 593 nm e a variação da concentração em μM .



O extrato etanólico da raiz, bulbo e folha foram avaliados pelo método FRAP (Figura 50). Após a conclusão do teste, todas as amostras analisadas demonstraram potencial antioxidante. No entanto, a amostra do extrato etanólico da raiz apresentou uma capacidade redutora numericamente maior que os extratos etanólico de bulbo e folha, próximo ao valor de concentração. Esses resultados sugerem que as substâncias responsáveis pela atividade antioxidante podem estar presentes no extrato etanólico da raiz, bulbo e folha.

Figura 50: Avaliação da atividade antioxidante das amostras extrato etanólico bulbo, folha e raiz de *Zephyranthes irwiniana* pelo método FRAP.



5. CONCLUSÃO

O presente estudo descreveu o perfil químico e biológico de *Zephyranthes irwiniana* (Ravenna) Nic. García. (Amaryllidaceae). Ao todo, foram identificados seis alcaloides nas folhas, bulbos e raízes, destacando a diversidade química da planta e reforçando seu potencial farmacológico.

Por meio de cromatografia gasosa-espectrometria de massas (CG-EM), foram identificados licorina (**1**), nerinina (**5**), hipeastrina (**48**), isoquinolina (**49**), neronina (**50**), anidrolícorina (**51**), bem como compostos como β -sitosterol, acetato de β -sitosterol, ácido n-hexadecanoico, β -carbolina, decanoato de etila, 1-hexadecanol, esqualeno, ácido linoleico, ácido octadecanoico, acetil tributílica citrato, δ -tocopherol e aribina/harmano.

Os extratos de *Z. irwiniana* exibiram atividade inibitória sobre a enzima AChE, com diferentes graus de potência, destacando o extrato etanólico da raiz, que demonstrou o maior potencial de inibição. Na avaliação do potencial antioxidante, os resultados foram moderados. O extrato etanólico da raiz que também apresentou uma capacidade superior em comparação aos extratos etanólicos de bulbo e folha.

Este estudo confirma que *Zephyranthes irwiniana* é uma fonte promissora de compostos bioativos e alcaloides de importância farmacológica, especialmente a licorina (**1**), que possui diversos efeitos farmacológicos, incluindo atividade anti-inflamatória e, principalmente, citotóxico. Portanto, estudos adicionais são necessários para caracterizar e isolar os compostos alcaloídicos extraídos nas amostras, utilizando a técnica da ressonância magnética nuclear (RMN).

Esses achados podem contribuir para a preservação da espécie, atualmente listada como ameaçada de extinção, bem como para manutenção e conservação do espécimen em seu habitat natural.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMOUDA, K.; BENHAOUA, B.; LAOUINI, S. E.; LABBI, A. Plant extract FRAP effect on cation vacancies formation in greenly synthesized wüstite (Fe₃O₄) nanoparticles: A new contribution. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, v. 25, p. 100563, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scp.2021.100563>
- AKRAM, M. N.; VERPOORTE, R.; POMAHAČOVÁ, B. Effect of bulb age on alkaloid contents of *Narcissus pseudonarcissus* bulbs. **South African Journal of Botany**, v. 136, p. 182-189, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.07.034>
- AL MAMUN, A. **Amaryllidaceae alkaloids of genus *Narcissus* and their biological activity**. Advisor Cahlíková, Lucie. 2023. 95 f. Thesis - Department of Pharmacognosy and Pharmaceutical Botany, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Hradec Králové, 2023. <https://dspace.cuni.cz/handle/20.500.11956/183568>
- ALVES-ARAÚJO, A.; PESSOA, E.; ALVES, M. Caracterização morfoanatômica de espécies de Amaryllidaceae e Alliaceae do Nordeste brasileiro. **Revista Caatinga**, v. 25, n. 4, p. 68-81, 2012.
- ALZHEIMER'S ASSOCIATION. 2021 Alzheimer's disease facts and figures. **Alzheimer's & Dementia**, v.17, n. 3, p. 327-406, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/alz.12328>
- AMARAL, A. C. **Amaryllidaceae Jaume St.-Hil.:** levantamento das espécies do Distrito Federal, Brasil, e estudos de multiplicação *in vitro*. Orientador: CAVALCANTI, T. B. 2007. 114 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Departamento de Botânica, Universidade de Brasília, Brasília, 2007. <http://repositorio2.unb.br/jspui/handle/10482/2863>
- AMARAL, A. C. **Erva *Habranthus*. (Amaryllidaceae) no Brasil:** estudo taxonômico, caracterização morfológica e relações filogenéticas. Orientador: CAVALCANTI, T. B. 2012. 167 f. Tese (Doutorado em Botânica) - Departamento de Botânica, Universidade de Brasília, Brasília, 2012. DOI <https://repositorio.unb.br/handle/10482/10650>.
- AMARAL-LOPES, A. C.; CAVALCANTI, T. B. *Habranthus* (Amaryllidaceae) do Brasil. **Rodriguésia**, v. 66, n. 1, p. 203–220, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/2175-7860201566112>
- AMIRKIA, V.; HEINRICH, M. Alkaloids as drug leads – A predictive structural and biodiversity-based analysis. **Phytochemistry Letters**, v. 10, p. xlviii-liv, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2014.06.015>
- ANDRADE, J. P.; GIORDANI, R. B.; TORRAS-CLAVERIA, L.; PIGNI, N. B. et al. The Brazilian Amaryllidaceae as a source of acetylcholinesterase inhibitory alkaloids. **Phytochemistry Reviews**, v. 15, n. 1, p. 147-160, 2016.
- ANDRADE, J. P.; GUO, Y.; FONT-BARDIA, M.; CALVET, T. et al. Crinine-type alkaloids from *Hippeastrum aulicum* and *H. calyptratum*. **Phytochemistry**, v. 103, p. 188-195, 2014.

ANDRADE, J. P.; PIGNI, N. B.; TORRAS-CLAVERIA, L.; BERKOV, S. et al. Bioactive alkaloid extracts from *Narcissus broussonetii*: Mass spectral studies. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 70, p. 13-25, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2012.05.009>

ARYA, A.; CHAHAL, R.; RAO, R.; RAHMAN, M. H. et al. Acetylcholinesterase inhibitory potential of various sesquiterpene analogues for Alzheimer's disease therapy. **Biomolecules**, v. 11, n. 3, p. 350, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/biom11030350>

ATANASOV, A. G.; ZOTCHEV, S. B.; DIRSCH, V. M.; ORHAN, I. E. et al. Natural products in drug discovery: advances and opportunities. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 20, n. 3, p. 200-216, 2021.

AY, E. B.; AÇIKGÖZ, M. A.; KOCAMAN, B.; MESCI, S.; KOCAMAN, B.; YILDIRIM, T. Zinc and phosphorus fertilization in *Galanthus elwesii* Hook: Changes in the total alkaloid, flavonoid, and phenolic content, and evaluation of anti-cancer, anti-microbial, and antioxidant activities. **Scientia Horticulturae**, v. 317, p. 112034, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2023.112034>

BARRA, I. M. M.; SILVA DOS REIS, A.; MIYAGAWA, H. K.; BERKOV, S.; SANTOS, A. S. Systematic investigation and lipidomic profiles composition characterization in leaves of five Amaryllidaceae species by HRGC-MS technique. **South African Journal of Botany**, v. 142, p. 25-33, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.06.007>

BEHL, T.; KAUR, I.; SEHGAL, A.; SINGH, S. et al. "Aducanumab" making a comeback in Alzheimer's disease: An old wine in a new bottle. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 148, p. 112746, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.112746>

BELWAL, T.; EZZAT, S. M.; RASTRELLI, L.; BHATT, I. D. et al. A critical analysis of extraction techniques used for botanicals: Trends, priorities, industrial uses and optimization strategies. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 100, p. 82-102, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.12.018>

BERKOV, S.; ATANASOVA, M.; GEORGIEV, B.; BASTIDA, J.; DOYTCHINOVA, I. The Amaryllidaceae alkaloids: an untapped source of acetylcholinesterase inhibitors. **Phytochemistry Reviews**, v. 21, n. 5, p. 1415-1443, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11101-021-09790-0>

BERKOV, S.; DENEV, R.; SIDJIMOVA, B.; ZAREV, Y. et al. Gas chromatography–mass spectrometry of some homolycorine-type Amaryllidaceae alkaloids. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 37, n. 12, p. e9506-n/a, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/rcm.9506>

BESHIR, S. A.; AADITHSOORYA, A. M.; PARVEEN, A.; GOH, S. S. L. et al. Aducanumab Therapy to Treat Alzheimer's Disease: A Narrative Review. **International Journal of Alzheimer's Disease**, v. 2022, p. 9343514-10, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2022/9343514>

BESSA, C.; ANDRADE, J.; OLIVEIRA, R.; DOMINGOS, E. et al. Identification of Alkaloids from *Hippeastrum aulicum* (Ker Gawl.) Herb. (Amaryllidaceae) Using CGC-MS and Ambient Ionization Mass Spectrometry (PS-MS and LS-MS). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 28, n. 5, p. 819-830, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20160234>

BHOWMICK, S.; MISTRI, T. K.; KHAN, M. R.; PATIL, P. C. et al. Investigation of bio-active amaryllidaceae alkaloidal small molecules as putative SARS-CoV-2 main protease and host TMPRSS2 inhibitors: interpretation by in-silico simulation study. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, p. 1-21, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/07391102.2023.2238065>

BORGHETTI, F.; OLIVEIRA CAETANO, G. H.; COLLI, G. R.; FRANÇOSO, R. et al. The firewall between Cerrado and Amazonia: Interaction of temperature and fire govern seed recruitment in a Neotropical savanna. **Journal of Vegetation Science**, v. 32, n. 1, p. n/a, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jvs.12988>

BOSHRA, Y. R.; MOSTAFA, Y. A.; HAMED, A. N. E.; DESOUKEY, S. Y. et al. Wound healing potential of *Narcissus pseudonarcissus* L. bulbs supported with chemical and molecular docking investigations. **South African journal of Botany**, v. 157, p. 490-501, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2023.04.028>

BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, ME E BERSET, CLWT. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. **LWT-Food Science and Technology**. v. 28, p. 25-30, 1995. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Biodiversidade Brasileira**. Disponível em: <https://www.mma.gov.br/biodiversidade/biodiversidade-brasileira/> Acesso em: 22 de junho de 2020.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Portaria MMA nº 148, de 07 de junho de 2022**. Atualizada a Lista Nacional de Espécies Ameaçadas de Extinção., Diário Oficial da União., p. 74-103, 2022. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/portaria-mma-n-148-de-7-de-junho-de-2022-406272733>.

BREIJYEH, Z.; KARAMAN, R. Comprehensive Review on Alzheimer's Disease: Causes and Treatment. **Molecules**. v. 25, n. 24, p. 5789-28, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules25245789>

BRIGGS, C. K.; HIGHET, P. F.; HIGHET, R. J.; WILDMAN, W. C. Alkaloids of the Amaryllidaceae. VII. Alkaloids Containing the Hemiacetal or Lactone Group¹. **Journal of the American Chemical Society**, v. 78, n. 12, p. 2899-2904, 1956. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ja01593a068>

CACABELOS, R.; MARTÍNEZ-IGLESIAS, O.; CACABELOS, N.; CARRERA, I. et al. Therapeutic Options in Alzheimer's Disease: From Classic Acetylcholinesterase Inhibitors to Multi-Target Drugs with Pleiotropic Activity. **Life**, v. 14, n. 12, p. 1555, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/life14121555>

CAESAR, L. K.; CECH, N. B. Synergy and antagonism in natural product extracts: when 1 + 1 does not equal 2. **Natural Product Reports**, v. 36, n. 6, p. 869-888, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/c9np00011a>

CAHLÍKOVÁ, L.; KAWANO, I.; ŘEZÁČOVÁ, M.; BLUNDEN, G. et al. The Amaryllidaceae alkaloids haemanthamine, haemanthidine and their semisynthetic derivatives as potential drugs. **Phytochemistry Reviews**, v. 20, n. 1, p. 303-323, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11101-020-09675-8>

CARBONERA, F. **Avaliação da composição lipídica e da capacidade antioxidante em filés de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentados com diferentes fontes de gorduras e antioxidantes**. Orientador: Jesuí Vergílio Visentainer. 2014. 106 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Departamento de Química, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2014. <http://repositorio.uem.br:8080/jspui/handle/1/4740>. Acesso em 27 jun. 2023

CASTANEDA, C.; BRAVO, K.; CORTES, N.; BEDOYA, J. et al. Amaryllidaceae alkaloids in skin cancer management: Photoprotective effect on human keratinocytes and anti-proliferative activity in melanoma cells. **Journal of Applied Biomedicine**, v. 21, n. 1, p. 36-47, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.32725/jab.2023.004>

CASTILLO-ORDOÑEZ, W. O.; CAJAS-SALAZAR, N. Chapter 40 - Acetylcholinesterase inhibitory agents in plants and their application to dementia: Alzheimer's disease. In: MARTIN, C. R. e PREEDY, V. R. (Ed.). **Diagnosis and Management in Dementia**: Academic Press, p. 631-645, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815854-8.00040-9>

CEDRÓN, J. C.; RAVELO, Á. G.; LEÓN, L. G.; PADRÓN, J. M. et al. Antiproliferative and structure activity relationships of Amaryllidaceae alkaloids. **Molecules**, v. 20, n. 8, p. 13854-13863, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules200813854>

CENTENO-BETANZOS, L. Y.; LÓPEZ-CAAMAL, A.; CORTÉS RENDON, N.; LEÓN SANTIAGO, M. et al. Microsatellites, morphological, and alkaloids characterization of *Zephyranthes fosteri* and *Z. alba* (Amaryllidaceae): Allopatric populations. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 101, p. 104398, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bse.2022.104398>

CHEN, M.-X.; HUO, J.-M.; HU, J.; XU, Z.-P. et al. Amaryllidaceae alkaloids from *Crinum latifolium* with cytotoxic, antimicrobial, antioxidant, and anti-inflammatory activities. **Fitoterapia**, v. 130, p. 48-53, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2018.08.003>

CHOWDHURY, S.; KUMAR, S. Alpha-terpinyl acetate: A natural monoterpenoid from *Elettaria cardamomum* as multi-target directed ligand in Alzheimer's disease. **Journal of Functional Foods**, v. 68, p. 103892, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103892>

COLE, E. R.; ANDRADE, J. P.; ALLOCHIO FILHO, J. F.; SCHMITT, E. F. P. et al. Cytotoxic and Genotoxic Activities of Alkaloids from the Bulbs of *Griffinia gardneriana* and *Habranthus itaobinus* (Amaryllidaceae). **Anticancer Agents in Medicinal Chemistry**,

v.19, n. 5, p. 707-717, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/1871520619666190118122523>

CORREA OTERO, D. I. **Estudio de la composición de metabolitos secundarios de especies de amaryllidaceae obtenidos en cultivo *in vitro* y su actividad antitumoral.** Profesor Guía: NAVARRETE, E. P. 2020. 160 f., Tesis (Facultad de Química y Farmacia) - Universidad de Concepción, Concepción-Chile, 2020. <http://repositorio.udec.cl/jspui/handle/11594/1114>

CORREIA, D. C. C.; ASSUNÇÃO, C. T.; DAMIÃO, V. H. B.; MARTINS, A. P. C. et al. Métodos de extração de metabólitos secundários da planta jovem de capim limão (*Cymbopogon citratus*) para identificação por cromatografia líquida de alta eficiência. **Brazilian Journal of Development**, v. 9, n. 7, p. 22251-22266, 2023.

CORTES, N.; SIERRA, K.; ALZATE, F.; OSORIO, E. Alkaloids of Amaryllidaceae as Inhibitors of Cholinesterases (AChEs and BChEs): An Integrated Bioguided Study: Alkaloids of Amaryllidaceae as Inhibitors of Cholinesterases. **Phytochemical Analysis**, v. 29, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/pca.2736>

DAVID, B.; WOLFENDER, J.-L.; DIAS, D. A. The pharmaceutical industry and natural products: historical status and new trends. **Phytochemistry Reviews**, v. 14, n. 2, p. 299-315, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11101-014-9367-z>

DEWES NETO, B.; GOMES-COPELAND, K. K. P.; SILVEIRA, D.; GOMES, S. M. et al. Influence of Sucrose and Activated Charcoal on Phytochemistry and Vegetative Growth in *Zephyranthes irwiniana* (Ravenna) Nic. García (Amaryllidaceae). **Plants**, v. 13, n. 5, p. 569, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/plants13050569>

ELLMAN, G. L.; COURTNEY, K. D.; ANDRES, V.; FEATHERSTONE, R. M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**, v. 7, n. 2, p. 88, IN81,91-90, IN81,95, 1961.

EL-FEKY, A. M.; EL-RASHEDY, A. A. Sterols and flavonoids in strawberry calyx with free radical scavenging, anti-inflammatory, and molecular dynamic study. **Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 12, n. 1, p. 108-114, 2023.

FATIMA, N.; BAQRI, S. S. R.; ALSULIMANI, A.; FAGOONEE, S. et al. Phytochemicals from Indian Ethnomedicines: Promising Prospects for the Management of Oxidative Stress and Cancer. **Antioxidants**, v. 10, n. 1606, p. 1-28, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/antiox10101606>

FERREIRA, E. E.; SANTOS CARVALHO, E.; CASTRO SANT, C. A importância do uso de fitoterápicos como prática alternativa ou complementar na atenção básica: revisão da literatura. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 1, p. e44611124643-e44611124643, 2022.

FERREIRA, P. G.; HÜTHER, C. M.; CARVALHO, A. S.; FOREZI, L. D. S. M. et al. Nicotina e a Origem dos Neonicotinoides: Problemas ou Soluções? **Revista Virtual de Química**, v. 14, n. 3, 2022.

FETER, N.; LEITE, J. S.; CAPUTO, E. L.; CARDOSO, R. K. et al. Who are the people with Alzheimer's disease in Brazil? Findings from the Brazilian Longitudinal Study of Aging. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 24, p. e210018-e210018, 2021.

FLORA E FUNGA DO BRASIL. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>. Acesso em: 18 Abr 2024.

FRANÇOZO, R. D.; DEXTER, K. G.; MACHADO, R. B.; PENNINGTON, R. T. et al. Delimiting floristic biogeographic districts in the Cerrado and assessing their conservation status. **Biodiversity and Conservation**, v. 29, n. 5, p. 1477-1500, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10531-019-01819-3>

GARCEZ, F. R.; GARCEZ, W. S.; YOSHIDA, N. C.; FIGUEIREDO, P. O. A diversidade dos constituintes químicos da flora de Mato Grosso do Sul e sua relevância como fonte de substâncias bioativas. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 1, p. 97-129, 2016.

GARCÍA, N.; MEEROW, A. W.; ARROYO-LEUENBERGER, S.; OLIVEIRA, R. S. et al. Generic classification of Amaryllidaceae tribe *Hippeastreae*. **Taxon**, v. 68, n. 3, p. 481-498, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/tax.12062>

GASCA, C. A.; MOREIRA, N. C. S.; DE ALMEIDA, F. C.; DUTRA GOMES, J. V. 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, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111703>

GOMES, J. V. D.; TOSTA, C. L.; CUNHA NETO, Á. D.; FAGG, C. W. et al. Chemical profile and biological activity of *Crinum americanum* L. (Amaryllidaceae). **South African Journal of Botany**, v. 146, p. 25-35, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.09.034>

GOMES-COPELAND, K. K. P.; MEIRELES, C. G.; GOMES, J. V. D.; TORRES, A. G. et al. *Hippeastrum stapfianum* (Kraenzl.) R.S.Oliveira & Dutilh (Amaryllidaceae) Ethanol Extract Activity on Acetylcholinesterase and PPAR- α/γ Receptors. **Plants**, v. 11, n. 22, p. 3179, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/plants11223179>

GRODOWSKA, K.; PARCZEWSKI, A. Organic solvents in the pharmaceutical industry. **Acta Poloniae Pharmaceutica**, v. 67, n. 1, p. 3-12, 2010.

GUARIM NETO, G.; MORAIS, R. G. D. Recursos medicinais de espécies do cerrado de Mato Grosso: um estudo bibliográfico. **Acta Botanica Brasilica**, v. 17, p. 561-584, 2003.

GUERRIERI, C. G.; PIGNI, N. B.; ANDRADE, J. P.; SANTOS, V. D. et al. Alkaloids from *Crinum erubescens* Aiton. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 9, n. 5, p. 688-693, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2015.07.009>

HAN, S. Y.; SWEENEY, J. E.; BACHMAN, E. S.; SCHWEIGER, E. J. et al. Chemical and pharmacological characterization of galanthamine, an acetylcholinesterase inhibitor, and its derivatives. A potential application in Alzheimer's disease? **European journal of**

Medicinal Chemistry, v. 27, n. 7, p. 673-687, 1992. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0223-5234\(92\)90087-H](https://doi.org/10.1016/0223-5234(92)90087-H)

HAN, Z.; ZHANG, J.; WANG, S.; CHEN, H. et al. Characterization of the key aroma-active compounds in Yangjiang Douchi by sensory-directed flavor analysis. **European Food Research & Technology**, v. 250, n. 2, p. 603-614, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00217-023-04415-6>

HERMES, L. S. Los superpoderes de las plantas: los metabolitos secundarios en su adaptación y defensa. **Revista Digital Universitaria**, v. 23, n. 2, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.22201/cuaieed.16076079e.2022.23.2.10>

HERRAIZ, T. S.; PEÑA, A.; SALGADO, A. Identification, Formation, and Occurrence of Peroloryne: A β -Carboline Alkaloid with a Furan Moiety in Foods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 71, n. 36, p. 13451-13461, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c03612>

HOFMANN, G. S.; CARDOSO, M. F.; ALVES, R. J. V.; WEBER, E. J. et al. The Brazilian Cerrado is becoming hotter and drier. **Global Change Biology**, v. 27, n. 17, p. 4060-4073, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/gcb.15712>

HONG, L.; JI, Y.; KENNELLY, E. J.; LONG, C. et al. Amaryllidaceae alkaloids from *Lycoris* suppress amyloid β -induced neurodegeneration in transgenic *Caenorhabditis elegans* CL2355. **Industrial Crops and Products**, v. 189, p. 115798, 2022.

HULCOVÁ, D.; BREITEROVÁ, K.; SIATKA, T.; KLÍMOVÁ, K. et al. Amaryllidaceae Alkaloids as Potential Glycogen Synthase Kinase-3 β Inhibitors. **Molecules**, v. 23, n. 4, p. 719, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules23040719>

IRWIN, R. L.; SMITH, H. J. Cholinesterase inhibition by galanthamine and lycoramine. **Biochemical Pharmacology**, v. 3, n. 2, p. 147-148, 1960. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(60\)90030-7](https://doi.org/10.1016/0006-2952(60)90030-7)

IRWIN, R. L.; SMITH, H. J.; HEIN, M. M. The activity of certain lycoramine derivatives on muscle. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 134, n. 1, p. 53, 1961.

JIN, X.; CHI, J.; ZHAO, Y.; JIANG, R. et al. Indoloquinazoline alkaloids with cardiomyocyte protective activity against cold ischemic injury from *Aspergillus clavatonanicus*. **Bioorganic Chemistry**, v. 135, p. 106482-106482, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2023.106482>

JIN, Z.; YAO, G., Amaryllidaceae and *Sceletium* alkaloids. **Natural Product Reports**, v. 36, n. 10, p. 1462-1488, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/c8np00055g>

JÍLEK, L. **Biologická aktivita sekundárních metabolitů rostlin II. Alkaloidy *Narcissus jonquilla* L.** Adividor: Ločárek, Miroslav. 2015. 75 f. Thesis - Department of Pharmacognosy and Pharmaceutical Botany, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Hradec Králové, 2023. <https://dspace.cuni.cz/handle/20.500.11956/97637>

KA, S.; KOIRALA, M.; MÉRINDOL, N.; DESGAGNÉ-PENIX, I. Biosynthesis and Biological Activities of Newly Discovered Amaryllidaceae Alkaloids. **Molecules**, v. 25, n. 21, p. 1-27, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules25214901>

KATOCH, D.; KUMAR, D.; PADWAD, Y. S.; SINGH, B. et al. Narciclasine-4-O- β -D-xylopyranoside, a new narciclasine glycoside from *Zephyranthes minuta*. **Natural Product Research**, v. 34, n. 2, p. 233-240, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1527836>

KATOCH, D.; SINGH, B. Phytochemistry and pharmacology of genus *Zephyranthes*. **Journal of Medicinal and Aromatic Plants** v.4, n. 212, p. 2167-0412, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.4172/2167-0412.1000212>

KHALIFA, M. F.; ATTIA, E. Z.; FAHIM, J. R.; KAMEL, M. S. An overview on the chemical and biological aspects of lycorine alkaloid. **Journal of Advanced Biomedical and Pharmaceutical Sciences**, v. 1, n. 2, p. 41-49, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.21608/jabps.2018.4088.1016>

KHAN, Z.; NATH, N.; RAUF, A.; EMRAN, T. B. et al. Multifunctional roles and pharmacological potential of β -sitosterol: Emerging evidence toward clinical applications. **Chemico-Biological Interactions**, v. 365, p. 110117, Sep 25 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2022.110117>

KILGORE, M. B.; AUGUSTIN, M. M.; MAY, G. D.; CROW, J. A. et al. CYP96T1 of *Narcissus* sp. aff. *Pseudonarcissus* catalyzes formation of the Para-Para'CC phenol couple in the Amaryllidaceae alkaloids. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 225, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00225>

KOHELOVÁ, E.; MAŘÍKOVÁ, J.; KORÁBEČNÝ, J.; HULCOVÁ, D. et al. Alkaloids of *Zephyranthes citrina* (Amaryllidaceae) and their implication to Alzheimer's disease: Isolation, structural elucidation and biological activity. **Bioorganic Chemistry**, v. 107, p. 104567, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.104567>

KONG, C. K.; LOW, L. E.; SIEW, W. S.; YAP, W.-H. et al. Biological Activities of Snowdrop (*Galanthus* spp., Family Amaryllidaceae). **Frontiers in Pharmacology**, v. 11, p. 552453-552453, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.552453>

KOUTOVÁ, D.; MAAFI, N.; HAVELEK, R.; OPLETAL, L. et al. Chemical and Biological Aspects of Montanine-Type Alkaloids Isolated from Plants of the Amaryllidaceae Family. **Molecules**, v. 25, n. 10, p. 2337, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules25102337>

LABRAÑA, J.; MACHOCHO, A. K.; KRICSFALUSY, V.; BRUN, R. et al. Alkaloids from *Narcissus angustifolius* subsp. *transcarpathicus* (Amaryllidaceae). **Phytochemistry**, v. 60, n. 8, p. 847-852, 2002. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(02\)00154-1](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(02)00154-1)

LE, N.-T.-H.; DE JONGHE, S.; ERVEN, K.; VERMEYEN, T. et al. Anti-SARS-CoV-2 Activity and Cytotoxicity of Amaryllidaceae Alkaloids from *Hymenocallis littoralis*.

Molecules, v. 28, n. 7, p. 3222, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules28073222>

LEWIS, K.; DE V BARROS, F.; CURE, M. B.; DAVIES, C. A. et al. Mapping native and non-native vegetation in the Brazilian Cerrado using freely available satellite products. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 1588-1588, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-05332-6>

LIN, Y.-T.; CHOU, M.-C.; WU, S.-J.; YANG, Y.-H. Galantamine plasma concentration and cognitive response in Alzheimer's disease. **PeerJ**, v. 7, p. e6887-e6887, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.7717/peerj.6887>

LOPEZ, M. H. M. **Potencial de inibição de enzimas de interesse farmacêutico por espécies de Amaryllidaceae**. Orientadora: Silveira, Dâmaris. 2018. 105f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2018. <http://repositorio2.unb.br/jspui/handle/10482/33221>

LÓPEZ, S.; BASTIDA, J.; VILADOMAT, F.; CODINA, C. Acetylcholinesterase inhibitory activity of some Amaryllidaceae alkaloids and *Narcissus* extracts. **Life Sciences**, v. 71, n. 21, p. 2521-2529, 2002. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0024-3205\(02\)02034-9](https://doi.org/10.1016/S0024-3205(02)02034-9)

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA JR, V. F.; GRYNBERG, N. F. et al. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422002000300016>

MACÊDO, M. J. F.; RIBEIRO, D. A.; SANTOS, M. D. O.; MACÊDO, D. G. D. et al. Fabaceae medicinal flora with therapeutic potential in Savanna areas in the Chapada do Araripe, Northeastern Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 28, p. 738-750, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2018.06.010>

MADAV, Y.; WAIRKAR, S.; PRABHAKAR, B. Recent therapeutic strategies targeting beta amyloid and tauopathies in Alzheimer's disease. **Brain Research Bulletin**, v. 146, p. 171-184, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2019.01.004>

MAMBRO, L. D.; SOUZA, N. V. D.; SILVA, W. M. B. D. Atividade de alcaloides inibidores da acetilcolinesterase no tratamento da doença de Alzheimer: uma revisão sistemática. **Journal of Health & Biological Sciences**, v. 10, n. 1, p. 1, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.12662/2317-3076jhbs.v10i1.4196.p1-10.2022>

MARTINELLI, G.; MORAES, M. A. **Livro Vermelho da Flora do Brasil**. 1ed. Rio de Janeiro; Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Centro Nacional de Conservação da Flora: p.1102, 2013.

MARTINEZ-PEINADO, N.; ORTIZ, J. E.; CORTES-SERRA, N.; PINAZO, M. J. et al. Anti-Trypanosoma cruzi activity of alkaloids isolated from *Habranthus brachyandrus* (Amaryllidaceae) from Argentina. **Phytomedicine**, v. 101, p. 154126-154126, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2022.154126>

MARUCCI, G.; BUCCIONI, M.; BEN, D. D.; LAMBERTUCCI, C. et al. Efficacy of acetylcholinesterase inhibitors in Alzheimer's disease. **Neuropharmacology**, v. 190, p. 108352, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2020.108352>

MASI, M.; DI LECCE, R.; CIMMINO, A.; EVIDENTE, A. Advances in the Chemical and Biological Characterization of Amaryllidaceae Alkaloids and Natural Analogues Isolated in the Last Decade. **Molecules**, v. 25, n. 23, p. 5621, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules25235621>

MEEROW, A. W.; SNIJMAN, D. A. Amaryllidaceae. In: KUBITZKI, K. (Ed.). **Flowering Plants Monocotyledons: Lilianae (except Orchidaceae)**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, p. 83-110, 1998. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-3-662-03533-7_11

MENEZES-BARRA; I.M., S., A.S., CORPES, R.S., ANDRADE, E.DA S., SANTOS, S.F.DOS. Importância e Utilização da Família Amaryllidaceae como Plantas Ornamentais e como Fonte de Princípios Bioativos. **Bioculturalidade, Conservação e Biotecnologia na Amazônia Oriental**. Belém, p. 257-270, 2018.

MOSS, D. E. Improving anti-neurodegenerative benefits of acetylcholinesterase inhibitors in Alzheimer's disease: are irreversible inhibitors the future? **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 10, p. 3438, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms21103438>

MOTEBENNUR, S. L.; NANDESHWARAPPA, B. P.; KATAGI, M. S. Drug candidates for the treatment of Alzheimer's disease: New findings from 2021 and 2022. **Drugs and Drug Candidates**, v. 2, n. 3, p. 571-590, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ddc2030030>

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>

NAIR, J. J.; VAN STADEN, J. Insight to the antifungal properties of Amaryllidaceae constituents. **Phytomedicine**, v. 73, p. 152753-152753, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2018.11.013>

NAIR, J. J.; VAN STADEN, J. Chemical and biological studies of the South African Amaryllidaceae genera *Crinum*, *Ammocharis*, *Amaryllis*, *Cyrtanthus* and *Brunsvigia*. **South African Journal of Botany**, v. 142, p. 467-476, 2021a. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.07.012>

NAIR, J. J.; VAN STADEN, J. The plant family Amaryllidaceae as a source of cytotoxic homolycorine alkaloid principles. **South African Journal of Botany**, v. 136, p. 157-174, 2021b. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.07.013>

NAIR, J. J.; VAN STADEN, J.; BASTIDA, J. Chapter 3 - Cytotoxic Alkaloid Constituents of the Amaryllidaceae. In: ATTA UR, R. (Ed.). **Studies in Natural Products Chemistry**. Elsevier, v. 49, p. 107-156, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63601-0.00003-X>

NGUYEN, K. V.; HO, D. V.; LE, N. T.; VAN PHAN, K. et al. Flavonoids and alkaloids from the rhizomes of *Zephyranthes ajax* Hort. and their cytotoxicity. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 22193-22193, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-78785-2>

NICHIO-AMARAL, R.; CAMPOS-ROCHA, A.; ALVES-ARAÚJO, A. Flora do Espírito Santo: Amaryllidaceae. **Rodriguésia**, v. 71, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/2175-7860202071143>

NOVÁKOVÁ, D. **Biologická aktivita sekundárních metabolitů rostlin I. Alkaloidy *Narcissus jonquilla* L.** Advisor: LOCÁREK, M. 2015. 70f. Thesis - Department of Pharmaceutical Botany and Ecology, Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové. Disponível em: <https://dspace.cuni.cz/handle/20.500.11956/62052>

OLIVEIRA, G. L. S. Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais *in vitro* pelo método do DPPH: estudo de revisão. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 17, 2015. Disponível em: https://doi.org/10.1590/1983-084X/12_165

OLIVEIRA, R. S. D.; ANTOINETTE, J. H.; SANO, P. T. *Habranthus* (Amaryllidaceae) da cadeia do Espinhaço, Minas Gerais e Bahia, Brasil. **Rodriguésia**, v. 61, p. 491-503, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/2175-7860201061310>

PENG, Z.-T.; HUO, H.-X.; CHAO, L.-H.; SONG, Y.-L. et al. Isoquinoline alkaloids from *Corydalis edulis* Maxim. Exhibiting insulinotropic action. **Phytochemistry**, v. 209, p. 113637-113637, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2023.113637>

PEREIRA, C. C.; FERNANDES, G. W. Cerrado conservation is key to the water crisis. **Science**, v. 377, n. 6603, p. 270-270, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.add4719>

PEREIRA, N. P.; MIGUEL, O. G.; MIGUEL, M. D. Composição química do óleo fixo obtido dos frutos secos da [*Chamomilla recutita* (L.) Rauschert] produzida no município de Mandirituba, PR. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 4, p. 334-337, 2005.

PEREIRA, R. D. C.; CASTRO, A. D.; SILVA, E. B. D. Caracterização preliminar de acessos do gênero *Habranthus* (Amaryllidaceae). Brasília: Embrapa Agroindústria Tropical, 2022. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1140717/caracterizacao-preliminar-de-acessos-do-genero-habranthus-amaryllidaceae>.

PERRY, E. K.; PICKERING, A. T.; WANG, W. W.; HOUGHTON, P. et al. Medicinal Plants and Alzheimer's Disease: Integrating Ethnobotanical and Contemporary Scientific Evidence. **The Journal of Alternative and Complementary Medicine**, v. 4, n. 4, p. 419-428, 1998. Disponível em: <https://doi.org/10.1089/acm.1998.4.419>

PIGNI, N. B.; RÍOS-RUIZ, S.; MARTÍNEZ-FRANCÉS, V.; NAIR, J. J. et al. Alkaloids from *Narcissus serotinus*. **Journal of Natural Products**, v. 75, n. 9, p. 1643-1647, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/np3003595>

PLAZAS, E.; HAGENOW, S.; MURILLO, M. A.; STARK, H. et al. Isoquinoline alkaloids from the roots of *Zanthoxylum rigidum* as multi-target inhibitors of cholinesterase, monoamine oxidase A and A β 1-42 aggregation. **Bioorganic Chemistry**, v. 98, p. 103722, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.103722>

POURSHOJAEI, Y.; ABIRI, A.; ESKANDARI, K.; HAGHIGHIJOO, Z. et al. Phenoxyethyl Piperidine/Morpholine Derivatives as PAS and CAS Inhibitors of Cholinesterases: Insights for Future Drug Design. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 19855-19819, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56463-2>

QING, Z.; XU, Y.; YU, L.; LIU, J. et al. Investigation of fragmentation behaviours of isoquinoline alkaloids by mass spectrometry combined with computational chemistry. **Scientific Reports**, v. 10, n. 733, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-57406-7>

RAAL, A.; MEOS, A.; HINRIKUS, T.; HEINÄMÄKI, J. et al. Dragendorff's reagent: Historical perspectives and current status of a versatile reagent introduced over 150 years ago at the University of Dorpat, Tartu, Estonia. **Die Pharmazie**, v. 75, n. 7, p. 299-306, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1691/ph.2020.0438>

REIS, A.; MAGNE, K.; MASSOT, S.; TALLINI, L. R. et al. Amaryllidaceae alkaloids: identification and partial characterization of montanine production in *Rhodophiala bifida* plant. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 8471-8471, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-44746-7>

VMR - VERIFIED MARKET REPORTS. **Galantamine Hydrobromide Market Insights**, 2024. Disponível em: <https://www.verifiedmarketreports.com/product/galantamine-hydrobromide-market/>. Acesso em: 18 dez 2024.

REYES-CHILPA, R.; BERKOV, S.; HERNANDEZ-ORTEGA, S.; JANKOWSKI, C. K. et al. Acetylcholinesterase-inhibiting Alkaloids from *Zephyranthes concolor*. **Molecules**, v. 16, n. 11, p. 9520-9533, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules16119520>

RIBEIRO, D. B. V. R. **Atividades anticancerígena e anticolinesterásica de plantas da família das Amaryllidaceae**. Orientador: Ferreira, M. J. U. 2022. 55 f. Trabalho Final de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia Universidade de Lisboa. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10451/57895>.

RINAURO, D. J.; CHITI, F.; VENDRUSCOLO, M.; LIMBOCKER, R. Misfolded protein oligomers: mechanisms of formation, cytotoxic effects, and pharmacological approaches against protein misfolding diseases. **Molecular Neurodegeneration**, v. 19, n. 1, p. 20, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13024-023-00651-2>

ROJAS, J. B. S.; MALOSSO, M. G. Micropropagação de plantas medicinais no contexto brasileiro: revisão de literatura. **Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento**. v. 6, p. 159-167, 2022.

SELVAKUMAR, J. N.; CHANDRASEKARAN, S. D.; VAITHILINGAM, M. Bio Prospecting of Marine-derived *Streptomyces spectabilis* VITJS10 and Exploring its Cytotoxicity

Against Human Liver Cancer cell Lines. **Pharmacognosy Magazine**, v. 11, n. 44, p. S469-S473, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.4103/0973-1296.168974>

SIBANYONI, M. N.; CHAUDHARY, S. K.; CHEN, W.; ADHAMI, H.-R. et al. Isolation, *in vitro* evaluation and molecular docking of acetylcholinesterase inhibitors from South African Amaryllidaceae. **Fitoterapia**, v. 146, p. 104650, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2020.104650>

SIERRA, K.; DE ANDRADE, J. P.; R. TALLINI, L.; OSORIO, E. H. et al. *In vitro* and *in silico* analysis of galanthine from *Zephyranthes carinata* as an inhibitor of acetylcholinesterase. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 150, p. 113016-113016, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113016>

SILVA, C. A. G. **Estudo químico biomonitorado de espécies de Amaryllidaceae: *Crinum latifolium* L. e *Hippeastrum psittacinum* (Ker Gawl.) Herb.** Orientadora: Silveira, Dâmaris. 2019. 107f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2019. <http://icts.unb.br/jspui/handle/10482/47672>

SILVA, D. L. D. **Aplicação de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas na identificação de substâncias obtidas de algas marinhas de dois estados do Nordeste brasileiro.** Orientador: Araujo Junior, J. X. 2014. 191f. Tese (Doutorado em Química e Biotecnologia) Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2014. <http://www.repositorio.ufal.br/jspui/handle/riufal/2149>

SILVA, L. B.; FERREIRA, E. F. B.; MARYAM; ESPEJO-ROMÁN, J. M. et al. Galantamine Based Novel Acetylcholinesterase Enzyme Inhibitors: A Molecular Modeling Design Approach. **Molecules**, v. 28, n. 3, p. 1035, 2023.

SILVA, S. M. **CORRELAÇÃO METABÓLICA ENTRE FUNGOS ENDOFÍTICOS DE AMARYLLIDACEAE E AS PLANTAS HOSPEDEIRAS NA BUSCA POR SUBSTÂNCIAS BIOATIVAS.** Orientador: SANTOS, A. S. 2016. 98 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará, p. 98, 2016. Disponível em: <https://repositorio.ufpa.br/jspui/handle/2011/7444>

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; DE MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A. et al. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento.** Porto Alegre: Artmed Editora, 2017. 978-85-827 1-359-4.

STEYN, K. H.; DE VILLIERS, A.; VAN OTTERLO, W. A. L.; GREEN, I. R. Alkaloids from the *Crinum variable* (Amaryllidaceae)- including a full house of lycorine and its acylated derivatives. **South African Journal of Botany**, v. 146, p. 503-508, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.11.027>

SÁ-FILHO, G. F. D.; SILVA, A. I. B. D.; COSTA, E. M. D.; NUNES, L. E. et al. Medicinal plants used in the Brazilian caatinga and the therapeutic potential of secondary metabolites: a review. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 13, p. e140101321096, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i13.21096>

TRUJILLO, L.; BEDOYA, J.; CORTÉS, N.; OSORIO, E. H. et al. Cytotoxic Activity of Amaryllidaceae Plants against Cancer Cells: Biotechnological, *In Vitro*, and In Silico Approaches. **Molecules**, v. 28, n. 6, p. 2601, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules28062601>

TRUJILLO-CHACÓN, L. M.; ALARCÓN-ENOS, J. E.; CÉSPEDES-ACUÑA, C. L.; BUSTAMANTE, L. et al. Neuroprotective activity of isoquinoline alkaloids from of Chilean Amaryllidaceae plants against oxidative stress-induced cytotoxicity on human neuroblastoma SH-SY5Y cells and mouse hippocampal slice culture. **Food and Chemical Toxicology**, v. 132, p. 110665-110665, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.110665>

TRUJILLO-CHACÓN, L. M.; PASTENE-NAVARRETE, E. R.; BUSTAMANTE, L.; BAEZA, M. et al. *In vitro* micropropagation and alkaloids analysis by GC–MS of Chilean Amaryllidaceae plants: *Rhodophiala pratensis*. **Phytochemical Analysis**, v. 31, n. 1, p. 46-56, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/pca.2865>

VICENTE, A. R. **Alcaloides isoquinolínicos e atividade citotóxica *in vitro* de *Hippeastrum canastrense* J. Dutilh & RS Oliveira (Amaryllidaceae)**. Orientador: BORGES, W.S. B. 2016. 207 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Centro de Ciências Exatas, Universidade Federal do Espírito Santo, 2016. Disponível em: <https://dspace4.ufes.br/items/972b936c-73b6-4c78-9a6f-ce00fac4dd96>.

VIEGAS JR, C.; BOLZANI, V. D. S.; BARREIRO, E. J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, v. 29, p. 326-337, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422006000200025>

WAGNER, H.; BLADT, S. **Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas**. Berlin: Springer, 2 ed., p. 384, 2001.

WALCZAK-NOWICKA, Ł. J.; HERBET, M. Acetylcholinesterase Inhibitors in the Treatment of Neurodegenerative Diseases and the Role of Acetylcholinesterase in their Pathogenesis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 17, p. 9290, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms22179290>

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Dementia. Fact Sheets**, 2023a. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/demência>. Acesso em: 01 fev 2024.

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Traditional Medicine**, 2023b. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/questions-and-answers/item/traditional-medicine>. Acesso em: 02 fev 2024.

WFO. **The World Flora Online**, 2024. Published on the Internet. Disponível em: <https://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-4000041195#children>. Acesso em: 15 jan 2024.

WOŁOSIAK, R.; DRUŻYŃSKA, B.; DEREWIKA, D.; PIECYK, M. et al. Verification of the conditions for determination of antioxidant activity by ABTS and DPPH assays—A

practical approach. **Molecules**, v. 27, n. 1, p. 50, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules27010050>

YANG, Q.; LIN, G.; WANG, P.-H.; ZHOU, M. et al. Cytotoxic plicamine alkaloids from the whole plants of *Zephyranthes grandiflora*. **Journal of Asian Natural Products Research**, v. 24, n. 1, p. 24-30, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10286020.2021.1871607>

ZARAGOZA-PUCHOL, D.; ORTIZ, J. E.; ORDEN, A. A.; SANCHEZ, M. et al. Alkaloids Analysis of *Habranthus cardenasianus* (Amaryllidaceae), Anti-Cholinesterase Activity and Biomass Production by Propagation Strategies. **Molecules**, v. 26, n. 1, p. 192, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules26010192>

ZHAN, G.; GAO, B.; ZHOU, J.; LIU, T. et al. Structurally diverse alkaloids with nine frameworks from *Zephyranthes candida* and their acetylcholinesterase inhibitory and anti-inflammatory activities. **Phytochemistry**, v. 207, p. 113564-113564, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2022.113564>

ZHAN, G.; LIU, J.; ZHOU, J.; SUN, B. et al. Amaryllidaceae alkaloids with new framework types from *Zephyranthes candida* as potent acetylcholinesterase inhibitors. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 127, p. 771-780, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.10.057>