

Article

Estudo Fitoquímico e Avaliação da Atividade Citotóxica de *Strychnos pseudoquina* A. St.-Hil. (Loganiaceae)

Cássia Kênia Garcia Santos ¹, Gracielle Oliveira Sabbag Cunha ², Jeferson Pires Pinheiro ³, Cristiano Elpidio Mendes ⁴, Luciana Machado Ramos ⁵, Antônio Carlos Severo Menezes ⁶

¹ Mestre na Universidade Estadual de Goiás. ORCID: 0009-0002-2620-6114. E-mail: cassia_kenia@hotmail.com

² Doutora em Química. Professora no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás. ORCID: 0000-0003-0697-4132. E-mail: gracielle.oliveira@ifg.edu.br

³ Graduando na Universidade Estadual de Goiás. ORCID: 0000-0003-4336-2389. E-mail: jeferson.pinheiro@aluno.ueg.br

⁴ Mestre na Universidade Estadual de Goiás. ORCID: 0009-0008-9073-4636. E-mail: cristianfanfs@gmail.com

⁵ Doutora na Universidade Estadual de Goiás. ORCID: 0000-0002-7278-8496. E-mail: luciana.ramos@ueg.br

⁶ Doutor na Universidade Estadual de Goiás. ORCID: 0000-0001-8484-315X. E-mail: antonio.menezes@ueg.br

RESUMO

Strychnos pseudoquina A. St.-Hil. (Loganiaceae), também conhecida como “falsa-quina”, “quina-branca” ou “quina-do-cerrado”, é uma espécie nativa do Cerrado Brasileiro, cuja casca do caule é utilizada na medicina tradicional como tônico amargo e no tratamento de febre, malária, problemas hepáticos e estomacais. Apesar dos relatos benéficos do uso da planta, grande parte das espécies do gênero *Strychnos* são tóxicas e apresentam dados limitados na literatura. Diante disso, este trabalho teve como objetivo realizar o estudo fitoquímico e avaliar a atividade citotóxica da fração acetato de etila das cascas do caule de *S. pseudoquina*. Na concentração de 50 µg mL⁻¹, a fração apresentou inibição do crescimento celular de todas as linhagens avaliadas, com valores de inibição de 94,66% para HL60 (leucemia), 87,55% para HCT-116 (carcinoma de cólon humano), 85,68% para PC3 (próstata), 72,31% para SNB-19 (astrocitoma), e 64,37% para L929 (fibroblasto de camundongo). O estudo fitoquímico levou à identificação de dois flavonoides, 3-*O*-metilquercetina e estricnobilflavona, e de dois alcaloides, espermostricnina e 12-hidroxi-11-metoxiestricnobrasilina na fração. Trata-se do primeiro relato de ocorrência destes alcaloides em *S. pseudoquina*.

Palavras-chave: quina; metabólitos secundários; plantas medicinais.

ABSTRACT

Strychnos pseudoquina A. St.-Hil. (Loganiaceae), commonly known as "falsa-quina", "quina-branca" or "quina-do-cerrado", is a native plant species found in the Brazilian Cerrado. Its stem bark has been traditionally used in folk medicine as a bitter tonic and for treating fever, malaria, liver, and stomach ailments. While there have been reports of the plant's beneficial properties, most species within the *Strychnos* genus are toxic and lack comprehensive data in the literature. Therefore, the objective of this study was to conduct a phytochemical investigation and evaluate the cytotoxic activity of the ethyl acetate fraction obtained from the stem bark of *S. pseudoquina*. The fraction exhibited significant inhibition of cell growth against all tested strains at a concentration of 50 µg mL⁻¹, with inhibition values of 94.66% for HL60 (leukemia), 87.55% for HCT-116 (human colon carcinoma), 85.68% for PC3 (prostate), 72.31% for SNB-19 (astrocytoma), and 64.37% for L929 (mouse fibroblast). The phytochemical analysis resulted in the identification of two flavonoids, namely 3-*O*-methylquercetin and strychnobilflavone, along with two alkaloids, spermostrychnine and 12-hydroxy-11-methoxystrychnobrasiline, in the fraction. This is the first documented occurrence of these alkaloids in *S. pseudoquina*.

Keywords: quina; secondary metabolites; medicinal plants.



Submissão: 06/05/2024



Aceite: 24/09/2024



Publicação: 14/11/2024



Introdução

Loganiaceae é uma família que possui distribuição pantropical e engloba aproximadamente 460 espécies em 16 gêneros distribuídos em quatro tribos: Antonieae Endl., Loganieae Endl., Spigeliae Dumort. e Strychneae Dumort. (Struwe et al. 2018). A última inclui o gênero *Strychnos* L., que é o maior gênero de Loganiaceae, com cerca de 200 espécies distribuídas nas Américas, África, Austrália e Ásia (Setubal et al. 2021). Do ponto de vista fitoquímico, trata-se de um gênero especialmente rico em alcaloides com efeitos tóxicos, como a estricnina e a brucina, por exemplo (Hong et al. 2022). Embora o gênero seja conhecido pela toxicidade de seus compostos, espécies de *Strychnos* são utilizadas na medicina popular para tratar picadas de cobra, febres, úlceras, vermes e parasitas (Bonnet et al. 2022).

Strychnos pseudoquina A. St.-Hil. é uma espécie nativa do Cerrado brasileiro. Conhecida popularmente como “falsa-quina”, “quina-branca” ou “quina-do-cerrado”, as cascas de seu caule são utilizadas na medicina popular como tônico amargo e contra febres, bem como para aliviar problemas de fígado e estômago (Lorenzi & Matos 2008). Seu uso como tônico amargo geralmente é associado às espécies do gênero *Cinchona* (“quina-verdadeira”), cujo composto bioativo, quinina, é utilizado em bebidas tônicas, além de possuir propriedade antimalárica (Cosenza et al. 2013).

No que se refere à fitoquímica, estudos prévios com *S. pseudoquina* relatam a presença de alcaloides como diabolina, 11-metoxidiabolina e bisnorhidrotoxiferina, além dos flavonoides isoramnetina, 3-*O*-metilquercetina e estricnobiflavona (Boff et al. 2016, Lage et al. 2013, Nicoletti et al. 1984). Estudos farmacológicos realizados com o extrato da casca do caule de *S. pseudoquina* evidenciam as atividades leishmanicida (Lage et al. 2013), hipoglicemiante (Honorio-França et al. 2008), cicatrizante (Sarandy et al. 2017), antiherpes, anti-inflamatória (Boff et al. 2016) e angiogênica (Santos et al. 2024). Além disso, testes *in vivo* indicaram que o extrato metanólico das folhas de *S. pseudoquina* apresenta atividade antiulcerogênica (da Silva et al. 2005).

Diante do uso popular da espécie *S. pseudoquina* e da toxicidade apresentada por metabólitos secundários de *Strychnos* spp., este trabalho teve como objetivo realizar o estudo fitoquímico e avaliar a atividade citotóxica *in vitro* frente a linhagens de células tumorais (HCT-116, HL60, SNB-19 e PC3) e não-tumoral (L929) da fração acetato de etila das cascas do caule de *S. pseudoquina*.

Material e Métodos

Material vegetal

As cascas do caule de *Strychnos pseudoquina* foram coletadas no povoado de Garimpinho, município de Niquelândia, Goiás, Brasil (latitude: 14°23'33,5"S, longitude: 47°55'37,8"O). A atividade de acesso ao Patrimônio Genético foi cadastrada no SisGen (número A36DDE3) e a exsicata foi depositada no Herbário da Universidade Estadual de Goiás (registro 14494).

Extração, isolamento e identificação

As cascas do caule foram secas em estufa de circulação de ar (Marconi, MA035) a 45°C por 48 horas e pulverizadas em moinho de facas tipo Willey (Marconi, MA580). O material seco e moído (1157 g) foi extraído por maceração em etanol 96%, à temperatura ambiente, durante três dias. Em seguida, o solvente foi evaporado em rotaevaporador (Quimis, Q344M2), fornecendo o extrato etanólico bruto (SPCE, 122 g).

O extrato etanólico bruto (SPCE, 122 g) foi fracionado por filtração à vácuo com incorporação de celulose microcristalina D (Loba Chemie) e passagem de solventes em ordem crescente de polaridade: hexano, acetato de etila e metanol. Após o fracionamento, os solventes foram evaporados em rotaevaporador, resultando nas



frações hexânica (SPCE-H; 3,2 g; 2,6%), acetato de etila (SPCE-A; 66,6 g; 54,6%) e metanólica (SPCE-M; 52,2 g; 42,8%).

Parte da fração acetato de etila (SPCE-A; 30,0 g) foi submetida à cromatografia em coluna de vidro ($\Phi \times h = 5 \times 18$ cm) em sílica gel (230 - 400 Mesh, Neon), eluída com $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (gradiente: 2, 3, 5, 10, 20, 30, 40 e 50%), obtendo-se 10 sub-frações: A1 - A10. A sub-fração A7 (1,5 g) foi refractionada em coluna de vidro ($\Phi \times h = 2,5 \times 18,5$ cm), utilizando-se Sephadex LH-20 (Sigma-Aldrich) como fase estacionária e eluição isocrática (MeOH 100 %), resultando em 9 sub-frações: A7.1 - A7.9. A sub-fração A7.2 foi identificada como substância **1** (80,0 mg).

A sub-fração A6 (1,4 g) foi refractionada em coluna de vidro ($\Phi \times h = 5 \times 4$ cm) em sílica gel (230 - 400 Mesh), eluída com $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (gradiente: 5, 10, 20, 30, 50, 70 e 100%), obtendo-se a mistura das substâncias **1** e **2** (23,0 mg).

A sub-fração A7.9 (1,2 g) foi refractionada em coluna de vidro ($\Phi \times h = 5 \times 4$ cm), utilizando-se sílica gel (230 - 400 Mesh) como fase estacionária e eluição gradiente com $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (20, 30, 40, 50 e 100%). Foram obtidas 5 sub-frações: A7.9.1 - A7.9.5. A sub-fração A7.9.3 (1,0 g) foi refractionada em coluna de vidro ($\Phi \times h = 2 \times 20$ cm) em Sephadex LH-20, eluída com MeOH 100% (eluição isocrática), obtendo-se 3 sub-frações. A sub-fração A7.9.3.2 (0,8 g) foi refractionada em coluna de vidro ($\Phi \times h = 5 \times 40$ cm), utilizando-se sílica gel (230 - 400 Mesh) como fase estacionária e eluição gradiente com $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (5, 10, 20, 30, 50, 70 e 100%). Obteve-se, desta forma, uma mistura das substâncias **3** e **4** (3,6 mg). Os solventes utilizados para extração, fracionamento e isolamento foram das marcas Honeywell, Tedia, Dinâmica e Ultra Química.

As substâncias isoladas foram identificadas por meio dos espectros de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) unidimensionais (^1H e $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$) e bidimensionais (HSQC e HMBC). Os espectros foram obtidos em espectrômetro Bruker Avance III-500 (11,75 Tesla) operando a 500 MHz (^1H) e 125 MHz (^{13}C), utilizando-se tetrametilsilano (TMS) como padrão interno e acetona-*d*₆ (Sigma-Aldrich) como solvente.

Ensaio de citotoxicidade in vitro

A avaliação da atividade citotóxica foi realizada *in vitro* através do método MTT, conforme descrito por Mosman (1983), utilizando-se quatro linhagens tumorais: PC-3, HCT-116, SNB-19 e HL-60 e uma não-tumoral: L929.

As células foram plaqueadas nas concentrações de $0,7 \times 10^5$ céls mL^{-1} (HCT-116 e HL-60) e $0,1 \times 10^6$ céls mL^{-1} (PC-3, SNB-19 e L929). A amostra foi solubilizada em DMSO 0,05% e testada na concentração única de 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$. As placas foram incubadas por 72 horas em estufa a 5% de CO_2 e 37 °C. Ao término deste tempo, as placas foram centrifugadas e o sobrenadante foi removido. Em seguida, foram adicionados 100 μL da solução de MTT e as placas foram incubadas por 3 horas. A absorbância foi lida após dissolução do precipitado com 100 μL de DMSO puro em espectrofotômetro de placa a 570 nm.

Cada amostra foi testada em triplicata em três experimentos independentes. Os experimentos foram analisados segundo a média de inibição do crescimento celular, usando o programa GraphPad Prism 5.0.

Resultados e Discussão

Estudo fitoquímico

O estudo fitoquímico da fração acetato de etila das cascas do caule de *S. pseudoquina* levou à identificação de quatro substâncias pertencentes às classes dos flavonoides e dos alcaloides. Elas foram identificadas como 3-*O*-metilquercetina (**1**) (Markham 1989, da Silva et al. 2009), estricnobiflavona (**2**) (Nicoletti et al. 1984),



espermostricnina (**3**) (Iwataki & Comin 1971) e 12-hidroxi-11-metoxiestricnobrasilina (**4**) (Iwataki & Comin 1971) (Figura 1).

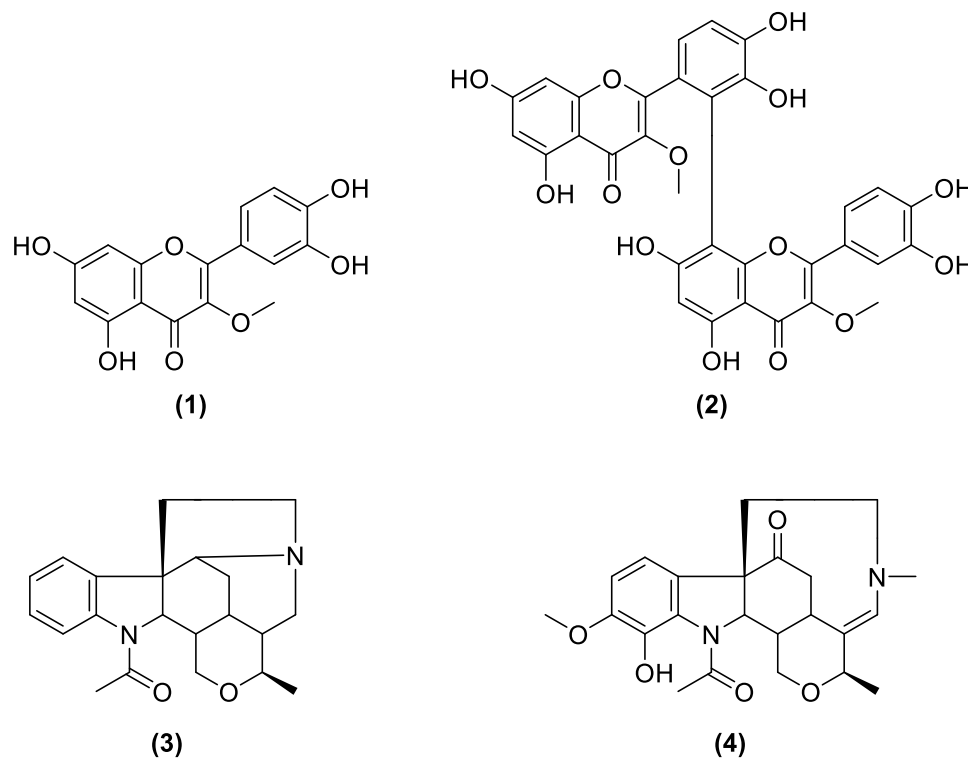


Figura 1. Estruturas das substâncias identificadas na fração acetato de etila das cascas do caule de *S. pseudoquina*. Fonte: Autores 2024.

O espectro de RMN ^1H da substância **1** (Figura S1, Material Suplementar) mostrou um sinal de metoxila em δ 3,87 (3H, *s*, OCH_3 -3), além de sinais em 12,82 (1H, *s*, OH H-5), 7,71 (1H, *d*, $J = 2,7$ Hz, H-2), 7,58 (1H, *dd*, $J = 2,7$ e 10,6 Hz, H-6'), 6,99 (1H, *d*, $J = 10,6$ Hz, H-5'), 6,50 (1H, *d*, $J = 2,6$ Hz, H-8), 6,26 (1H, *d*, $J = 2,6$ Hz, H-6) (Tabela 1). O espectro de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (Figura S2) mostrou sinais em δ 155,8 (C-2), 138,3 (C-3), 178,6 (C-4), 162,3 (C-5), 98,5 (C-6), 164,0 (C-7), 93,5 (C-8), 156,9 (C-9), 104,9 (C-10), 122,1 (C-1'), 115,4 (C-2'), 144,9 (C-3'), 148,2 (C-4'), 115,4 (C-5'), 121,2 (C-6') e 59,3 (OCH_3 -3) em sistema aromático de impedimento estérico, cujos sinais, conforme da Silva e colaboradores (2009), aparecem próximos a 60 ppm, diferente dos valores em torno de 56 ppm em posições mais livres. O mapa de contornos HSQC (Figura S3) mostrou as correlações diretas dos hidrogênios acoplados ao seu respectivo carbono em (1J): H6'-C6', H5'-C5', H2'-C2', H8-C8 e H6-C6. A correlação dos hidrogênios da metoxila (δ 3,87) com o carbono C-3 (δ 138,3, 3J) observada no HMBC (Figura S4) confirmaram a presença da metoxila em C-3. A análise do espectro de massas (Figura S5) revelou o pico de íon molecular em m/z 316,3198 (ionização positiva), com valor teórico de 316,0583. Foram observados um fragmento em m/z 302,0408 (valor teórico 302,0426), formado pela perda de metila ligada ao oxigênio da posição 3 do anel C, e um fragmento m/z 298,3088 (valor teórico 298,0477), proveniente da perda de uma molécula de água da 3-O-metilquercetina. A presença deste flavonoide nas cascas do caule de *S. pseudoquina* corrobora os resultados de Lage e colaboradores (2013), que também relataram a presença de 3-O-metilquercetina no extrato em acetato de etila das cascas do caule da espécie.

No espectro de RMN ^1H da substância **2** (Figura S6), obtida em mistura com a substância **1**, foram observados sinais em δ 3,87 (3H, *s*, OCH_3 -3), 12,82 (1H, *s*, OH H-5), 6,58 (1H, *s*, H-6), 7,50 (1H, *d*, $J = 8,0$ Hz,



H-2'), 6,99 (1H, *d*, H-5'), 7,58 (1H, *dd*, $J = 2,7$ Hz, H-6'), 6,83 (1H, *d*, $J = 2,0$ Hz, H-5''), 7,0 (1H, *d*, $J = 2,0$ Hz, H-6'') parcialmente sobreposto, 6,15 (1H, *d*, $J = 2,0$ Hz, H-8'), 6,52 (1H, *d*, $J = 2,0$ e $8,0$ Hz, H-6'') (Tabela 1). O espectro de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (Figura S7) mostrou sinais em δ 156,9 (C-2), 138,3 (C-3), 178,6 (C-4), 162,3 (C-5), 98,5 (C-6), 163,9 (C-7), 103,3 (C-8), 155,8 (C-9), 104,9 (C-10), 122,9 (C-1'), 122,9 (C-2'), 149,2 (C-3'), 145,6 (C-4'), 115,4 (C-5'), 121,2 (C-6'), 122,1 (C-1''), 115,7 (C-2''), 148,2 (C-3''), 144,9 (C-4''), 115,3 (C-5''), 119,2 (C-6''), 162,4 (C-7''), 93,5 (C-8''), 156,9 (C-9''), 104,9 (C-10''), 155,8 (C-2'''), 138,7 (C-3'''), 178,6 (C-4'''), 162,0 (C-5'''), 98,8 (C-6''') e 59,9 (OCH₃). No mapa HSQC (Figura S8) foram observadas as correlações diretas em (1J): H2-C2, H5-C5, H6-C6, H5'-C5', H6'-C6', H8'-C8', H6''-C6''. O grupo OCH₃ foi confirmado na posição 3 dos anéis C devido às mudanças químicas dos carbonos dos anéis A. O mapa de HMBC (Figura S9) confirmou os principais acoplamentos à longa distância, de modo que a substância **2** foi identificada como estricnobilavona. No espectro de massas de alta resolução em modo positivo (Figura S10), o pico do íon molecular $[2M+Na]^+$ foi observado em m/z 655,1089. Foram observados, ainda, fragmentos com m/z 537,3970 [M-92], formado pela perda de dois OCH₃ e duas moléculas de água; m/z 381,2960 [M-90], com perda de cinco moléculas de água; m/z 339,0473 [M-44], com perda de um OH e uma molécula de água (Nicolleti et al. 1984, da Silva et al. 2009). A presença da estricnobilavona já foi relatada anteriormente em extratos das cascas do caule (Lage et al. 2013) e das folhas (Nicolleti et al. 1984) de *S. pseudoquina*. De acordo com Gontijo e colaboradores (2020), estes dois flavonoides podem ser considerados marcadores fitoquímicos da espécie. A Tabela 1 resume os dados de RMN de ^1H e ^{13}C das substâncias **1** e **2**, identificadas como 3-*O*-metilquercetina e estricnobilavona, respectivamente.

As substâncias **3** e **4** foram identificadas em mistura. O espectro de RMN ^1H (Figura S11) mostrou sinais de grupos metila, hidrogênios aromáticos, grupos metínicos, metilênicos, dos prótons aromáticos H-9, H-10, H-11 e H-12, além dos sinais em δ 0,95 (*d*, CCH₃) e 2,32 (*s*, 23-COCH₃N) relacionados ao grupo acetil. Os dados de RMN ^{13}C foram extraídos do espectro de HSQC (Figura S12), que forneceu correlações em (1J): H9-C9; H10-C10; H11-C11; H12-C12 e H15-C15. A comparação com dados da literatura permitiu identificar a substância **3** como sendo o alcaloide espermostricnina (Iwataki & Comin 1971, Semenov et al. 2020).

O espectro de RMN ^1H da substância **4** (Figura S11) mostrou sinais do grupo metoxila em δ 3,86 (*s*, OCH₃), 2,84 (*s*, N-CO-CH₃), um sinal do grupo metila em 2,08 (*s*, NCH₃-4), e sinais de grupo acetila, pela presença de metil acoplado a um próton deslocado em 4,25 (*d*, H-2). Observou-se ainda a presença de dupletos em 7,01 e 6,99 (*d*, H-9 e H-10) e em 4,25 e 2,17 (*d*, H-2 e H-6), além dos sinais em 1,46 (*d*, CCH₃) e 4,19 (*q*, H-18), 2,32 (*m*, H-15 e H-5), 1,70 (*dd*, H-10) e 6,25 (*s*, H-21). Os sinais de ^{13}C foram extraídos do espectro de HSQC (Figura S12), que detectou correlações diretas em (1J): H9-C9; H10-C10; OCH₃-11; H12-C12; H14-C14; H18-C18 e H19-C19. A comparação com dados da literatura permitiu identificar a substância **4** como sendo o alcaloide 12-hidroxi-11-metoxiestricnobrasilina (Iwataki & Comin 1971, Angenot et al. 1990). A análise do espectro de massas da mistura de **3** e **4** (Figura S13) identificou o pico do íon de m/z 339,0453, referente a $[M+H]^+$, com valor próximo ao teórico de 339,2072 da espermostricnina, além de um pico em m/z 413,2655 relativo a $[M+H]^+$ compatível com o valor teórico 413,2076 para o alcaloide 12-hidroxi-11-metoxiestricnobrasilina (Iwataki & Comin 1971).

A presença da espermostricnina e da 12-hidroxi-11-metoxiestricnobrasilina já foi relatada anteriormente em outras espécies do gênero *Strychnos*. Iwataki e Comin (1971) isolaram estes alcaloides das cascas do caule de *S. brasiliensis*. Adicionalmente, espermostricnina foi isolada das folhas de *S. psilosperma* (Anet et al. 1953) e *S. henningsii* (Massiot et al. 1991). Angenot et al. (1990) e Belem-Pinheiro et al. (2002) relataram a presença de 12-hidroxi-11-metoxiestricnobrasilina em galhos, raízes e cerne de *S. mattogrossensis*. Trata-se do primeiro relato da ocorrência destes alcaloides na espécie *S. pseudoquina*.


Tabela 1. Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz) das substâncias 1 e 2 (Acetona- d_6).

H/C	Substância 1		H/C	Substância 2	
	δ_{H} (ppm), J (Hz)	δ_{C} (ppm)		δ_{H} (ppm), J (Hz)	δ_{C} (ppm)
2		155,8	2		156,9
3		138,3	3		138,3
4		178,6	4		178,6
5	12,82 (1H, s, OH)	162,3	5	12,82 (1H, s, OH)	162,3
6	6,26 (1H, d, J = 2,6)	98,5	6	6,58 (1H, s)	98,5
7		164,0	7		163,9
8	6,50 (1H, d, J = 2,6)	93,5	8		103,3
9		156,9	9		155,8
10		104,9	10		104,9
1'		122,1	1'		122,9
2'	7,71 (1H, d, J = 2,7)	115,4	2'	7,50 (1H, d, J = 8,0)	122,9
3'		144,9	3'		149,2
4'		148,2	4'		145,6
5'	6,99 (1H, d, J = 10,6)	115,4	5'	6,99 (1H, d)	115,4
6'	7,58 (1H, dd, J = 2,7 e 10,6)	121,2	6'	7,58 (1H, dd, J = 2,7)	121,2
OCH ₃ -3	3,87 (3H, s)	59,3	7'		162,4
			8'	6,15 (1H, d, J = 2,0)	93,5
			9'		156,9
			10'		104,9
			1''		122,1
			2''		115,7
			3''		148,2
			4''		144,9
			5''	6,83 (1H, d, J = 2,0)	115,3
			6''	7,0 (1H, d, J = 2,0)	119,2
			2'''		155,8
			3'''		138,7



H/C	Substância 1		H/C	Substância 2	
	δ_H (ppm), J (Hz)	δ_C (ppm)		δ_H (ppm), J (Hz)	δ_C (ppm)
			4'''		178,6
			5'''		162,0
			6'''	6,52 (1H, d, J = 2,0 e 8,0)	98,8
			OCH ₃ -3	3,87 (3H, s)	59,9

Fonte: Autores 2024.

Citotoxicidade

Para avaliar o potencial de inibição do crescimento celular foi utilizada a escala de intensidade reportada por da Silva et al. (2019) e Guedes et al. (2020): alta (IC% > 75%), moderada (IC% 50-75%) e baixa (IC% < 50%). A Tabela 2 apresenta o percentual de inibição da proliferação das células tumorais HCT-116 (carcinoma de cólon humano), HL60 (leucemia), SNB-19 (astrocitoma), PC3 (próstata) e da célula não tumoral L929 (fibroblasto de camundongo) pela fração acetato de etila das cascas do caule de *S. pseudoquina*, testada na concentração de 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Tabela 2. Percentual de inibição do crescimento (IC%) da fração acetato de etila frente às linhagens tumorais e não tumoral na concentração única de 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Amostra	Inibição do crescimento celular ^a / (IC% \pm DP)				
	HCT-116	HL60	SNB-19	PC3	L929
SPCE-A	87,55%	94,66%	72,31%	85,68%	64,37%

^aResultados expressos como média da porcentagem de inibição do crescimento celular (IC%) de três experimentos independentes realizados em triplicata. Fonte: Autores 2024.

Conforme demonstrado na Tabela 1, a fração acetato de etila das cascas do caule de *S. pseudoquina* foi altamente citotóxica para as linhagens celulares tumorais de carcinoma de cólon humano (HCT-116), leucemia (HL60) e próstata (PC3) e moderadamente citotóxica para a linhagem tumoral de astrocitoma (SNB-19) e para a linhagem não tumoral L929. Embora o percentual de redução de viabilidade celular para as células L929 tenha sido menor em comparação ao das células tumorais, ele ainda foi classificado como moderado, indicando uma baixa seletividade para linhagens tumorais. Estes resultados corroboram os de Santos e colaboradores (2006), que relataram a citotoxicidade do extrato metanólico das folhas de *S. pseudoquina* frente à cepa TA98 de *Salmonella typhimurium* na concentração de 26,60 mg/placa; e os de Gontijo et al. (2020), que também demonstraram o efeito citotóxico do extrato etanólico das cascas do caule de *S. pseudoquina* frente à *S. typhimurium*.

Conclusão

O estudo fitoquímico da fração acetato de etila das cascas do caule de *Strychnos pseudoquina* A. St.-Hil. (Loganiaceae) levou à identificação de quatro substâncias, sendo dois flavonoides, 3-O-metilquercetina e estricnobilflavona, e dois alcaloides, espermostricnina e 12-hidroxi-11-metoxiestricnobraisina. Trata-se do primeiro relato de ocorrência destes alcaloides em *S. pseudoquina*. No ensaio de citotoxicidade, a fração acetato



de etila das cascas do caule apresentou inibição do crescimento celular de todas as linhagens avaliadas. Os resultados obtidos através do estudo fitoquímico e da avaliação da atividade citotóxica da espécie *S. pseudoquina* contribuem para o conhecimento das características químicas e das atividades biológicas do gênero *Strychnos* e evidenciam a importância de explorar mais profundamente o gênero em estudos futuros.

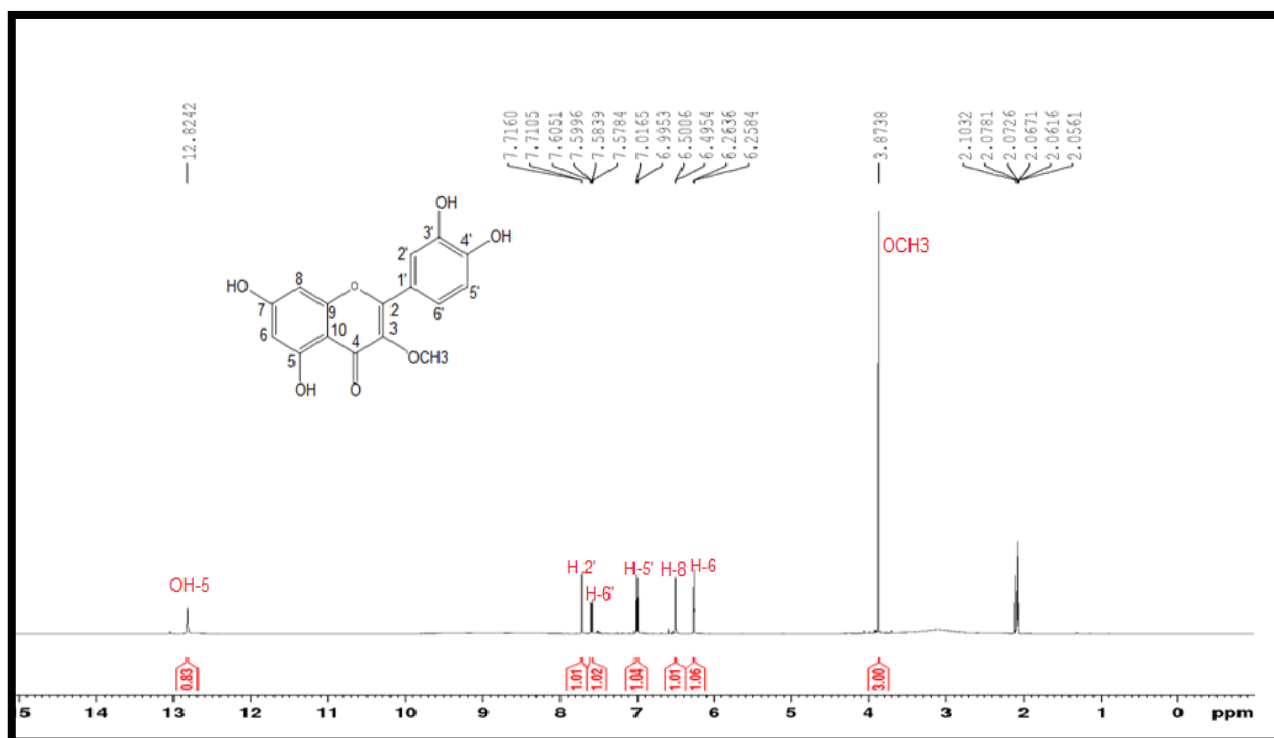


Figura S1: Espectro de RMN ^1H da substância 1 (Acetona- d_6 , 500 MHz). Fonte: Autores 2024.

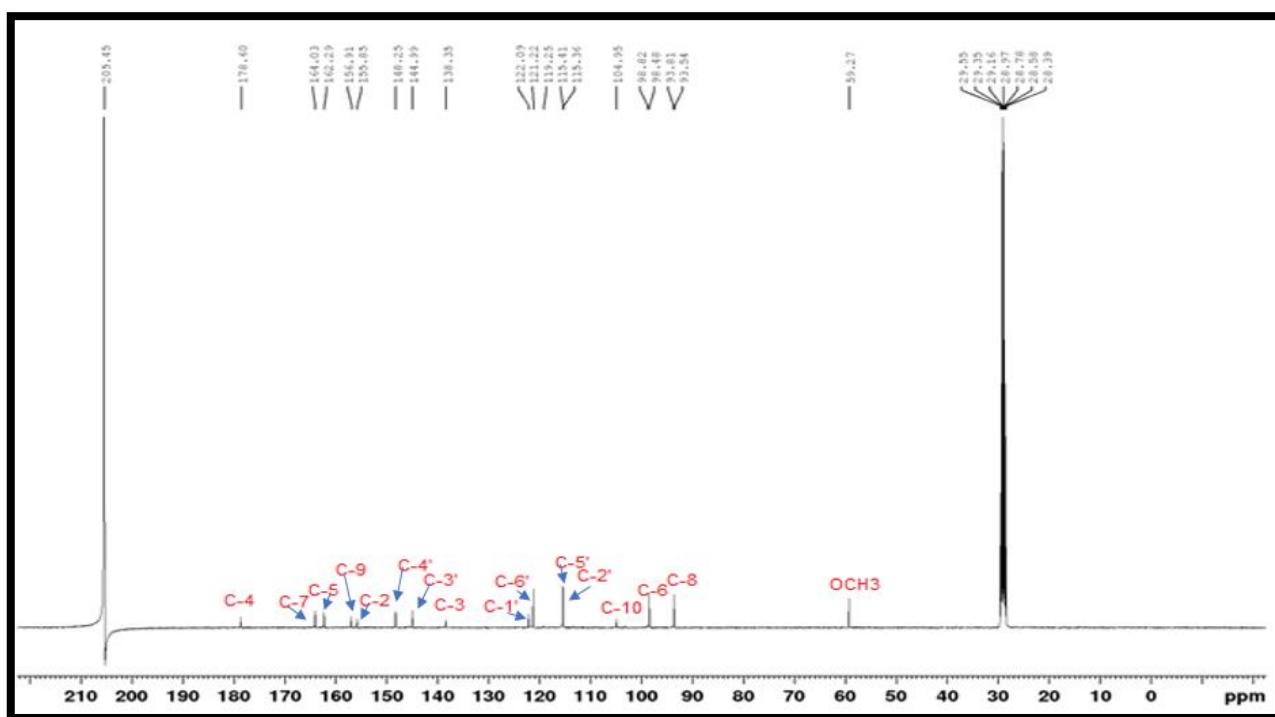


Figura S2: Espectro de RMN ^{13}C da substância 1 (Acetona- d_6 , 125 MHz). Fonte: Autores 2024.

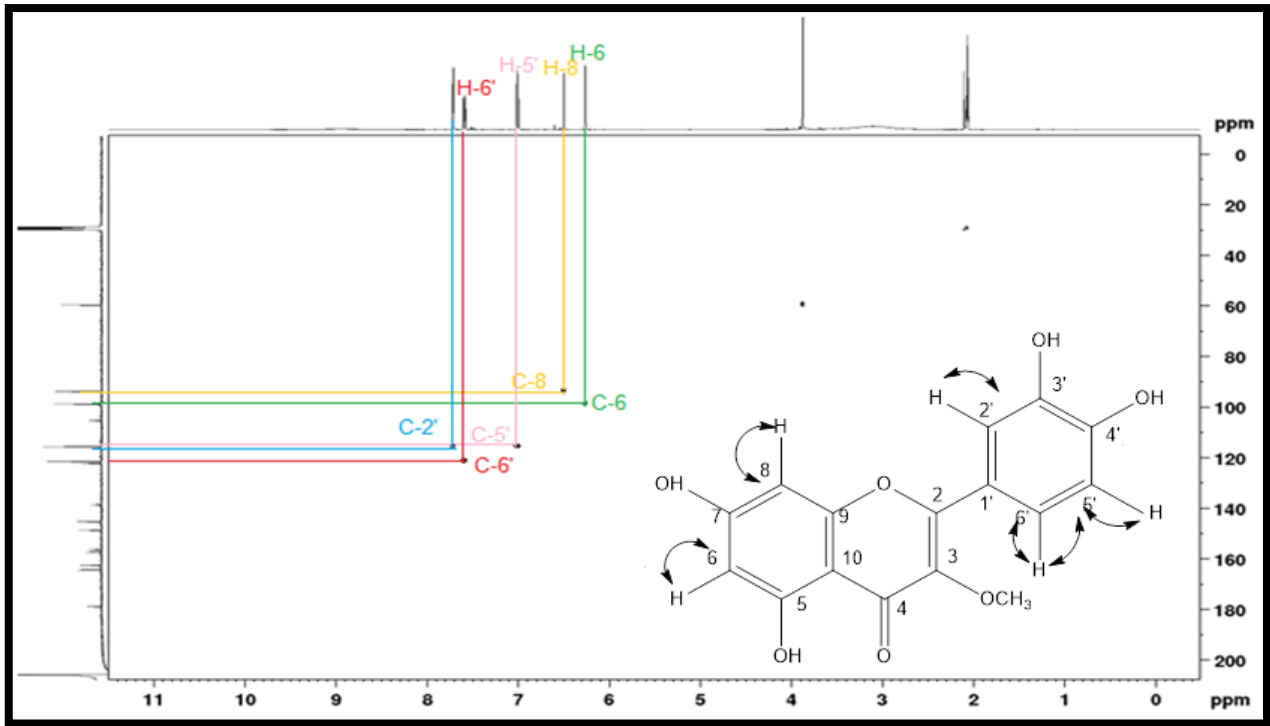


Figura S3: Espectro de correlação heteronuclear (^1H - ^{13}C), HSQC, da substância 1, (Acetona- d_6 , ^1H 500 MHz e ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ 125 MHz). Fonte: Autores 2024.

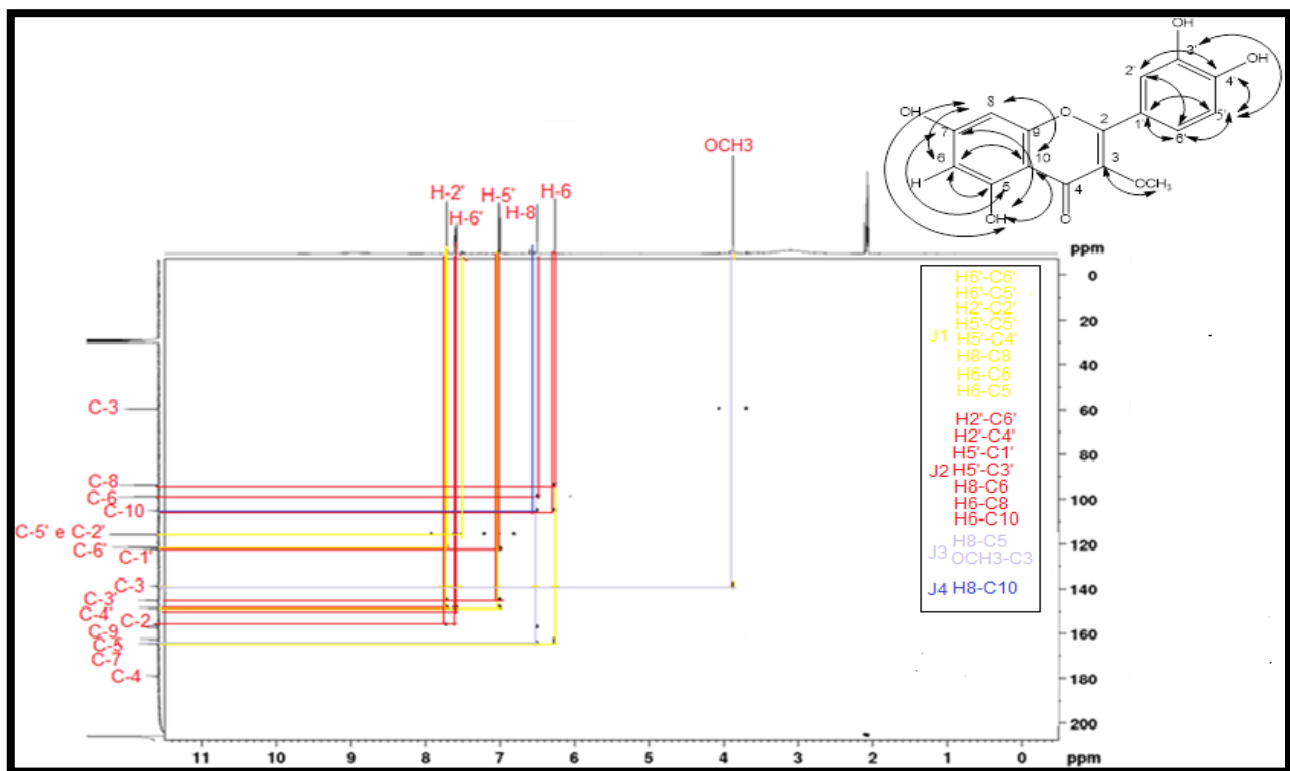


Figura S4: Espectro de correlação heteronuclear (^1H - ^{13}C), HMBC, da substância 1 (Acetona- d_6 ^1H 500 MHz, ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ 125 MHz). Fonte: Autores 2024.

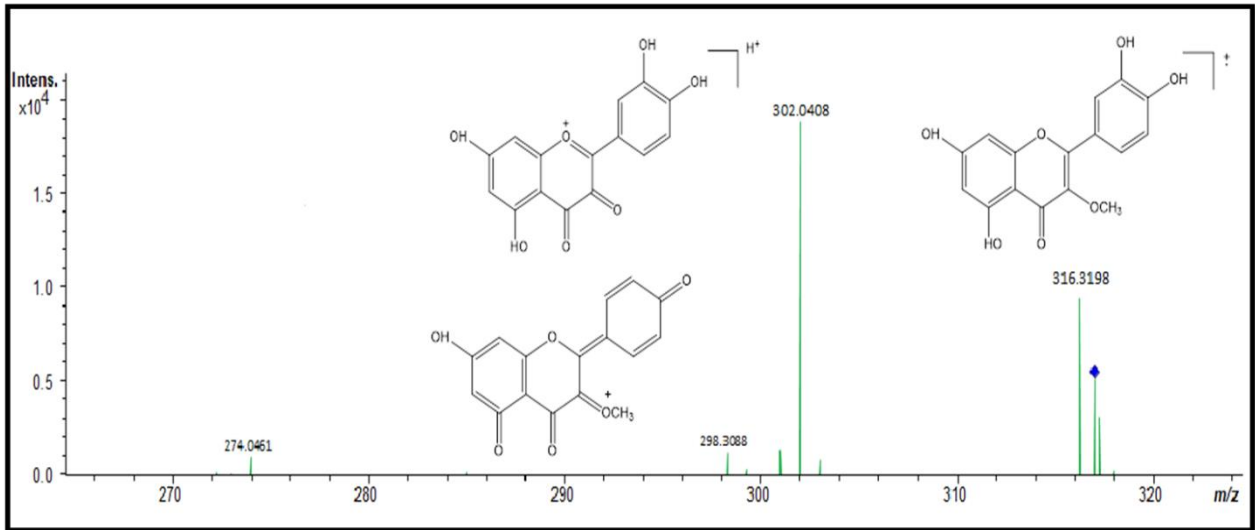


Figura S5: Espectro de massas modo positivo da substância 1. Fonte: Autores 2024.

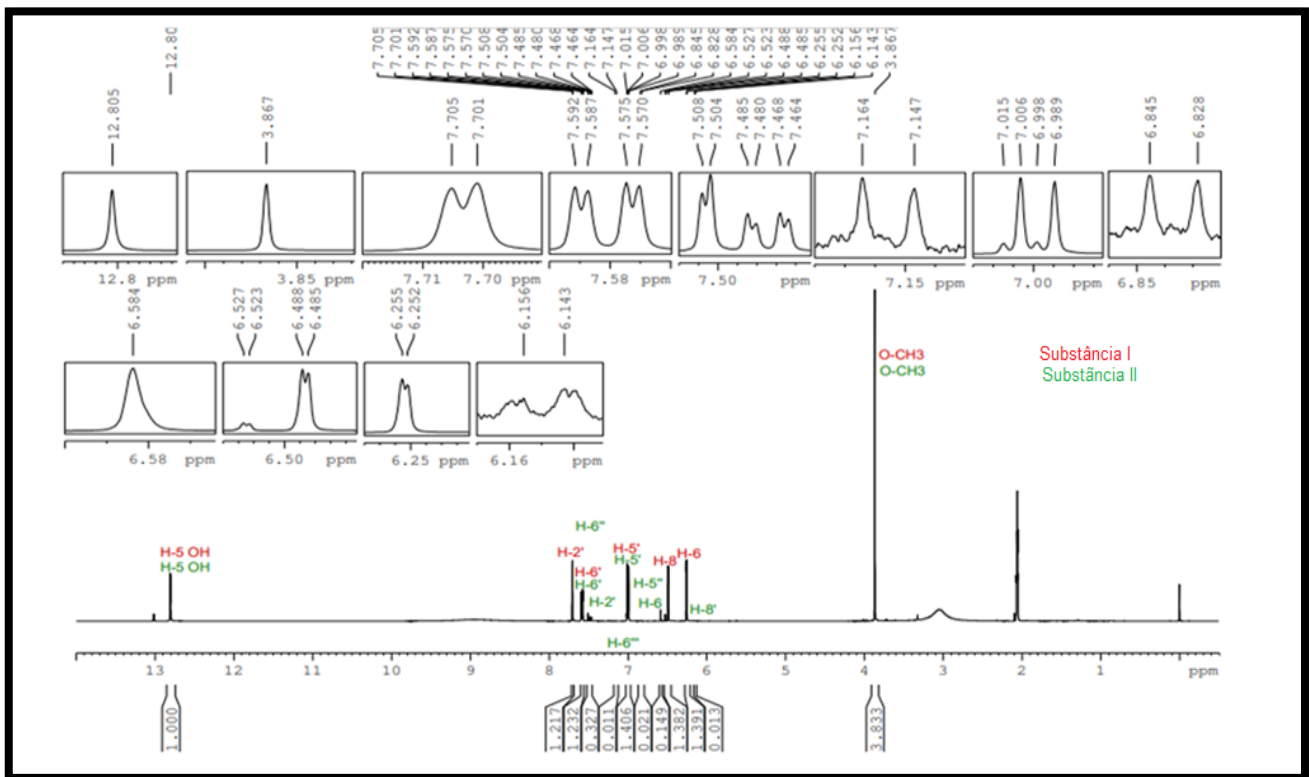


Figura S6: Espectro de RMN ^1H das substâncias 1 e 2 (Acetona- d_6 , 500 MHz). Fonte: Autores 2024.

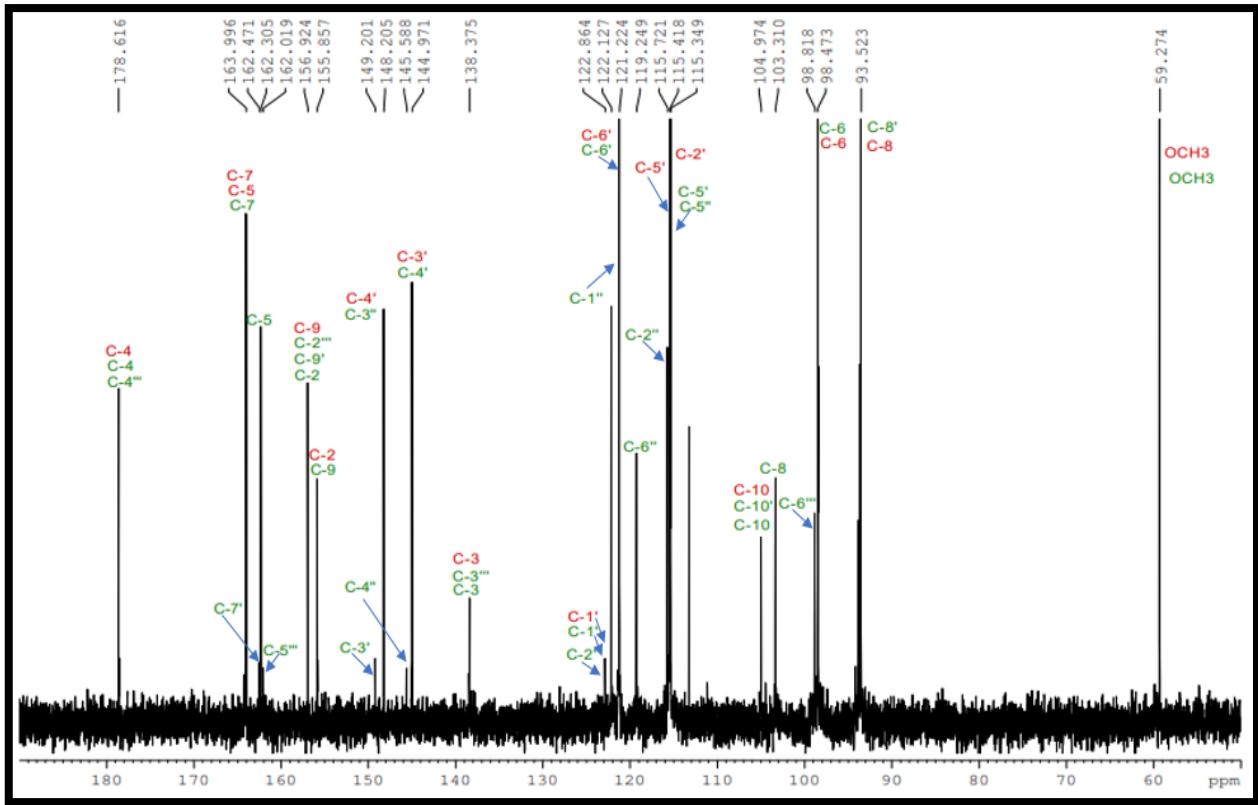


Figura S7: Espectro de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ das substâncias 1 e 2 (Acetona- d_6 , 125 MHz). Fonte: Autores 2024.

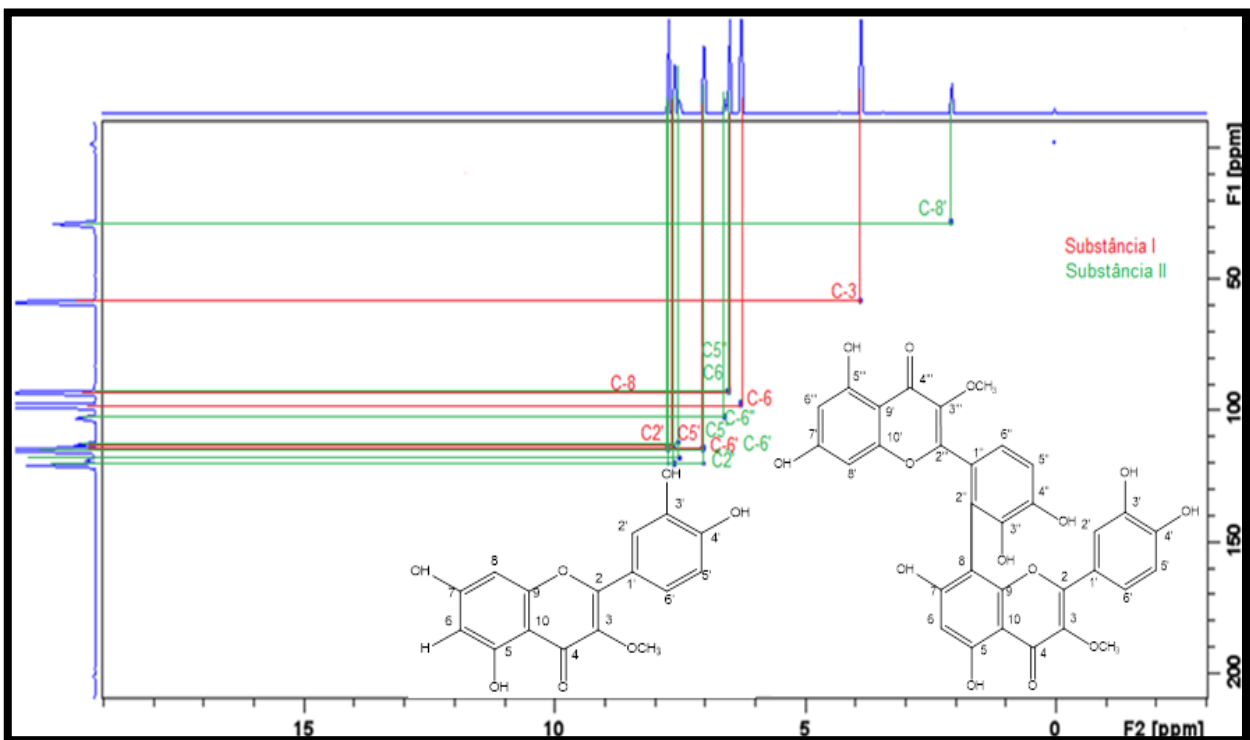


Figura S8: Espectro de correlação heteronuclear (^1H - ^{13}C), HSQC, das substâncias 1 e 2 (Acetona- d_6 ^1H 500 MHz, ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ 125 MHz). Fonte: Autores 2024.

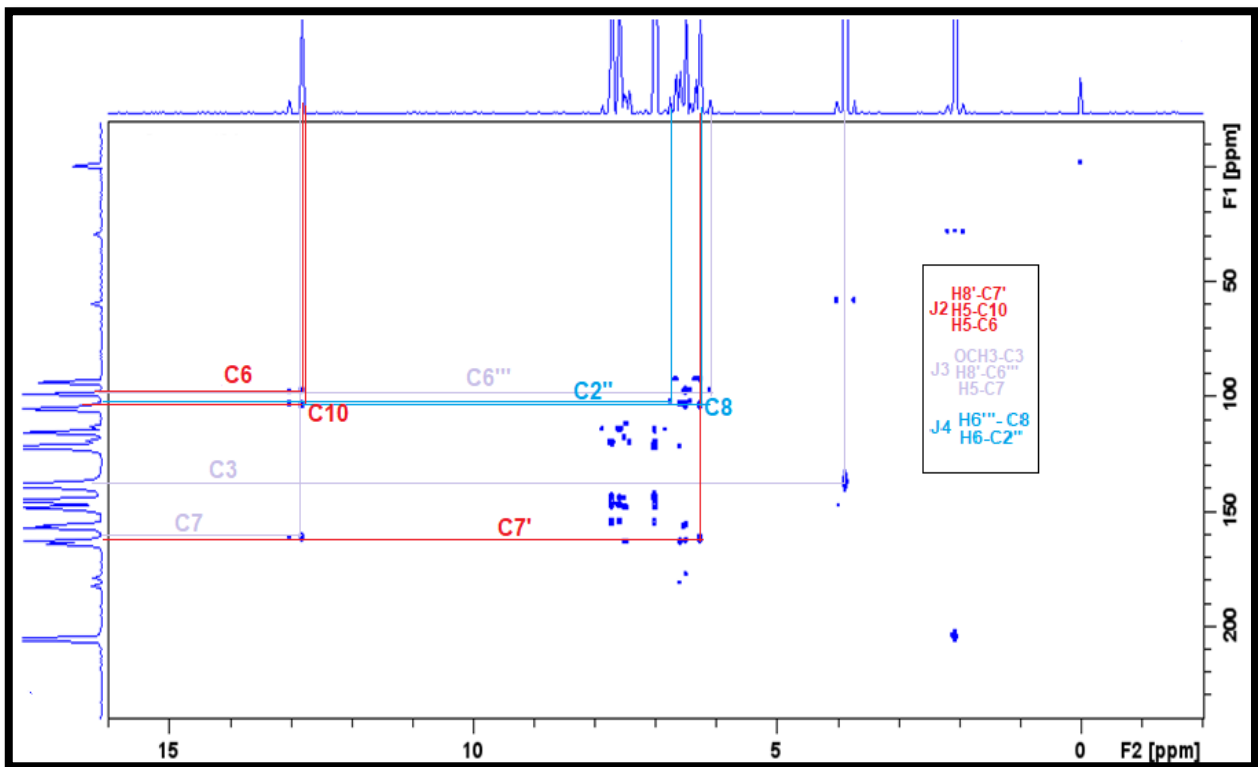


Figura S9: Espectro de correlação heteronuclear ($^1\text{H} - ^{13}\text{C}$), HMBC, das substâncias **1** e **2** (Acetona- d_6 ^1H 500 MHz, ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ 125MHz). Fonte: Autores 2024.

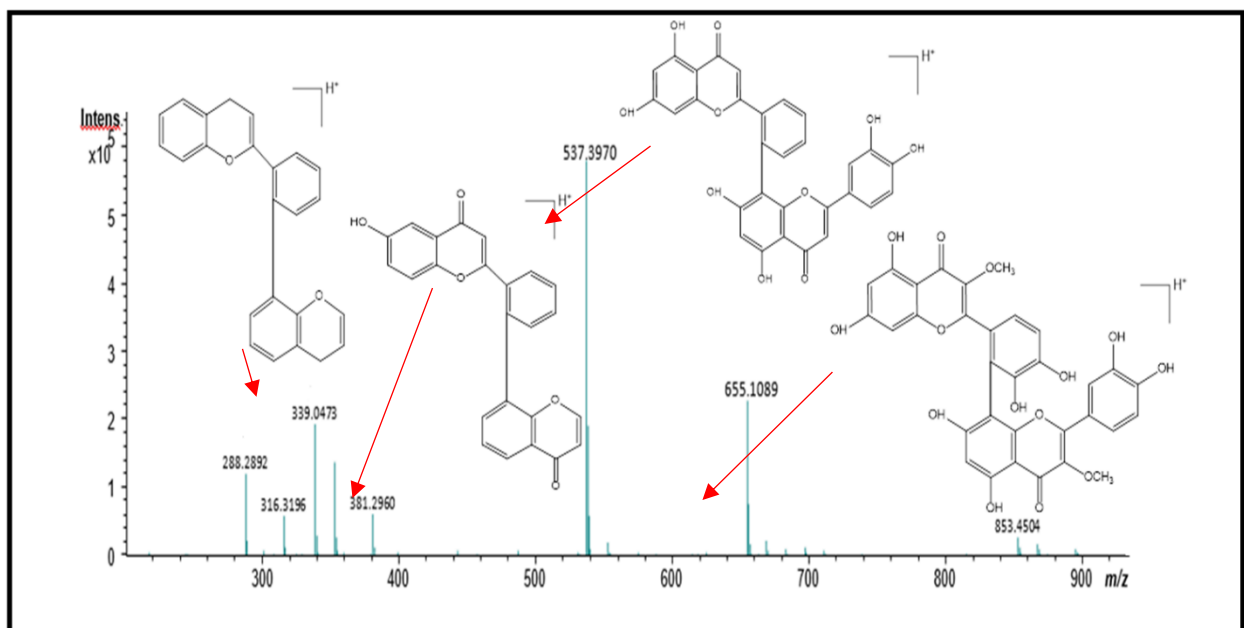


Figura S10: Espectro de massas modo positivo das substâncias **1** e **2**. Fonte: Autores 2024.

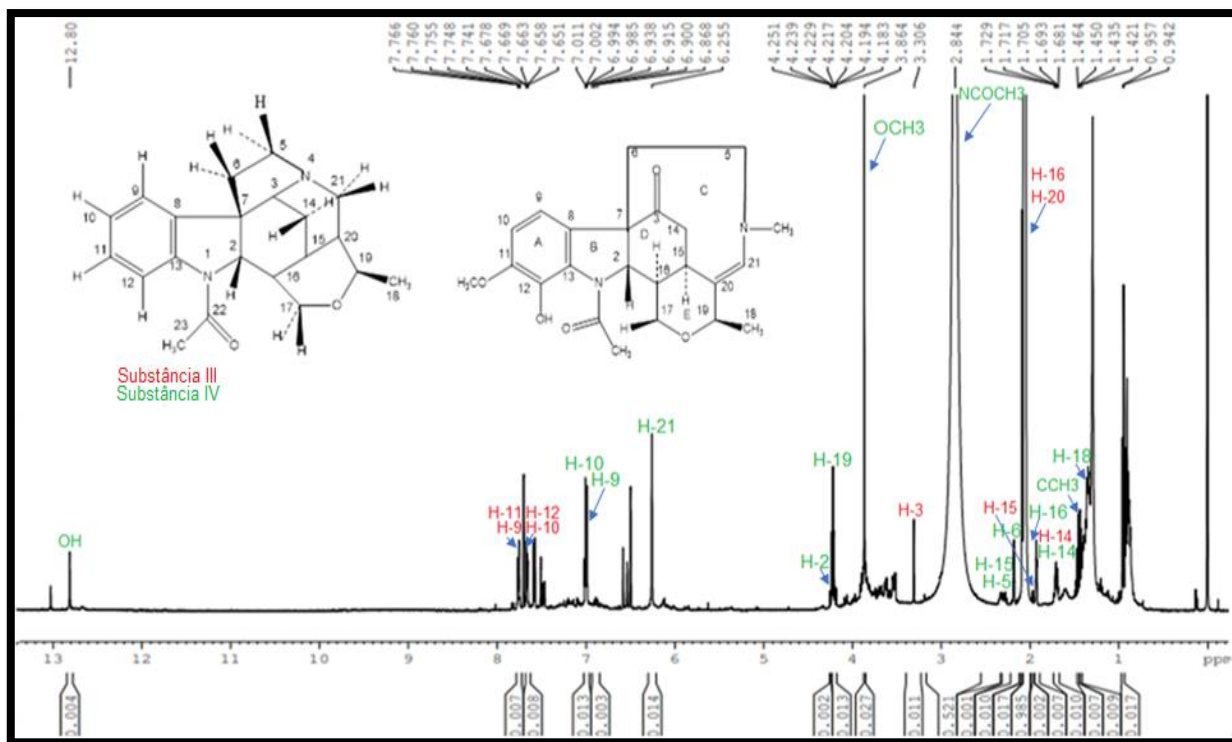


Figura S11: Espectro de RMN ^1H das substâncias 3 e 4 (Acetona- d_6 , 500 MHz). Fonte: Autores 2024.

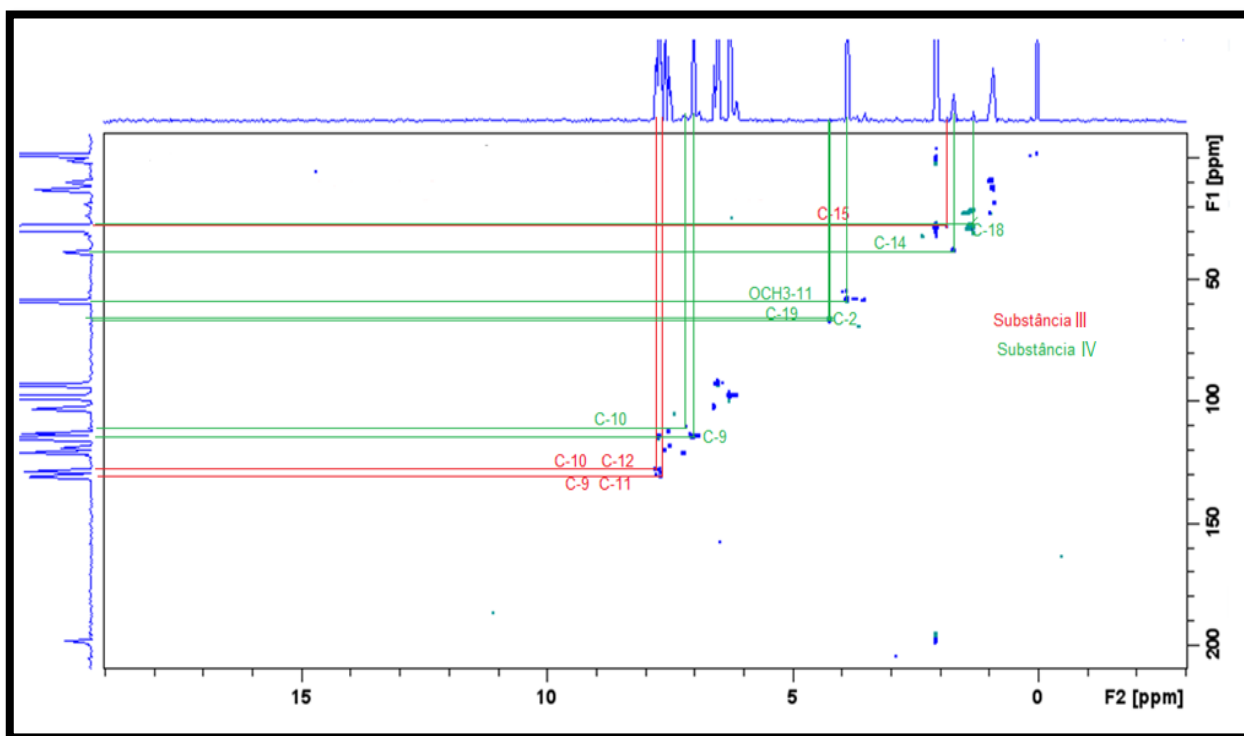


Figura S12: Espectro de correlação heteronuclear (^1H - ^{13}C), HSQC, das substâncias 3 e 4 (Acetona- d_6 ^1H 500 MHz, ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ 125 MHz). Fonte: Autores 2024.

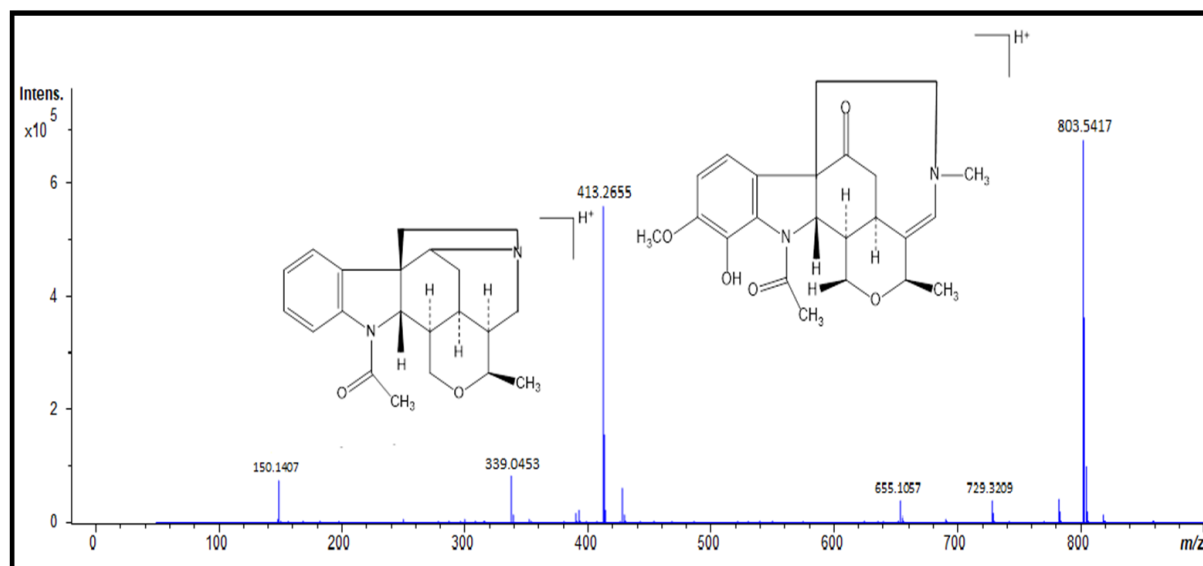


Figura S13: Espectro de massas modo positivo, das substâncias **3** e **4**. Fonte: Autores 2024.

Agradecimentos

Os autores agradecem à CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), ao Laboratório de Oncologia Experimental da Universidade Federal do Ceará (UFC), bem como ao MCT/FINEP/CT-INFRA.

Referências

- Anet FAL, Hughes GK, Ritchie E 1953. Alkaloids of Australian *Strychnos* species. I. Constituents of *S. lucida* R.Br. and *S. psilosperma* F.Muell. *Aust J Chem* 6(1):58-65.
- Angenot L, Belem-Pinheiro ML, da Rocha AI, Poukens-Renwart P, Quetin-Leclercq J, Warin R 1990. An indolinic cryptoalkaloid from *Strychnos mattogrossensis*. *Phytochemistry* 29(8):2746-2749.
- Belem-Pinheiro ML, Couceiro PR, da Rocha AF, Monte FJ, Villar JD 2002. A new strychnobrasiline base of *Strychnos mattogrossensis*. *Nat Prod Lett* 16(4):229-233.
- Bonnet O, Beniddir MA, Champy P, Kagisha V, Nyirimigabo A, Hamann C, Jgerenaia G, Ledoux A, Tchinda AT, Angenot L, Frédérick M 2022. Exploration by molecular networking of *Strychnos* alkaloids reveals the unexpected occurrence of strychnine in seven *Strychnos* species. *Toxicon* 215:57-68.
- Boff L, Silva IT, Argenta DF, Farias LM, Alvarenga LF, Pádua RM, Braga FC, Leite JPV, Kratz JM, Simões CMO 2016. *Strychnos pseudoquina* A. St. Hil.: a Brazilian medicinal plant with promising *in vitro* antiherpes activity. *J Appl Microbiol* 121(6):1519-1529.



Cosenza GP, Somavilla NS, Fagg CW, Brandão MGL 2013. Bitter plants used as substitute of *Cinchona* spp. (quina) in Brazilian traditional medicine. *J Ethnopharmacol* 149(3):790-796.

da Silva ACN, do Nascimento RMC, Rodrigues DCN, Ferreira PMP, Pessoa C, Lima DJB, de Moraes Filho MO, de Almeida RM, Ferreira SR, Fujiwara RT, do Nascimento AM 2019. *In vitro* activity evaluation of seven Brazilian Asteraceae against cancer cells and *Leishmania amazonenses*. *S Afr J Bot* 121:267-273.

da Silva MA, Rafacho BP, Hiruma-Lima CA, da Rocha LR, dos Santos LC, Sannomiya M, Souza-Brito AR, Vilegas W 2005. Evaluation of *Strychnos pseudoquina* St. Hil. leaves extract on gastrointestinal activity in mice. *Chem Pharm Bull* 53(8):881-885.

da Silva TMS, de Carvalho MG, Braz-Filho R 2009. Estudo espectroscópico em elucidação estrutural de flavonoides de *Solanum jabrense* Agra & Nee e *S. paludosum* Moric. *Quim Nova* 32(5):1119-1128.

Gontijo DC, Nunes LG, Farias LM, Duarte MGR, Carvalho AF, Fietto LG, Leite JPV 2020. Assessment of the phenolic content, mutagenicity and genotoxicity of ethanolic extracts of stem bark and leaves from *Strychnos pseudoquina* A. St.-Hil. *Drug and Chem Toxicol* 43(5):539-545.

Guedes JAC, Alves Filho EG, Silva MFS, Rodrigues THS, Ramires CMC, Lima MAC, Silva GS, Pessoa CO, Canuto KM, Brito ES, Alves RE, Nascimento RF, Zocolo GJ 2020. GC-MS-based metabolomic profiles combined with chemometric tools and cytotoxic activities of non-polar leaf extracts of *Spondias mombin* L. and *Spondias tuberosa* Arr. Cam. *J Braz Chem Soc* 31(2):331-340.

Hong B, Grzech D, Caputi L, Sonawane P, López CER, Kamileen MO, Lozada NJH, Grabe V, O'Connor SE 2022. Biosynthesis of strychnine. *Nature* 607:617-622.

Honorio-França AC, Marins CM, Boldrini F, França EL 2008. Evaluation of hypoglycemic activity and healing of extract from amongst bark of "Quina do Cerrado" (*Strychnos pseudoquina* A. St. Hil.). *Acta Cir Bras* 23(6):504-510.

Iwataki I, COMIN J 1971. Studies on Argentine plants-XXXI: Alkaloids from *Strychnos brasiliensis*. *Tetrahedron* 27(12):2541-2552.

Lage PS, de Andrade PH, Lopes AS, Fumagalli MAC, Valadares DG, Duarte MC, Lage DP, Costa LE, Martins VT, Ribeiro TG, Filho JD, Tavares CA, de Pádua RM, Leite JP, Coelho EA 2013. *Strychnos pseudoquina* and its purified compounds present an effective in vitro antileishmanial activity. *Evid Based Complement Altern Med* 2013:304354.

Lorenzi H, Matos FJ 2008. *Plantas medicinais no Brasil - nativas e exóticas*. Instituto Pantarum, Nova Odessa, 576 pp.

Markham KR 1989. Flavones, flavonols and their glycosides. *Methods Plant Biochem* 1:197-235.

Massiot G, Thepenier P, Jacquier M, Henin J, Le Men-Olivier L, Delaude C 1991. Alkaloids from *Strychnos benningsii*. *Phytochemistry* 30(10):3449-3456.



Mosmann T 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods* 65:55-63.

Nicoletti M, Goulart MO, de Lima RA, Goulart AE, Delle Monache F, Bettolo GBM 1984. Flavonoids and alkaloids from *Strychnos pseudoquina*. *J Nat Prod* 47(6):953-957.

Santos FV, Colus IM, Silva MA, Vilegas W, Varanda EA 2006. Assessment of DNA damage by extracts and fractions of *Strychnos pseudoquina*, a Brazilian medicinal plant with antiulcerogenic activity. *Food Chem Toxicol* 44(9):1585-1589.

Santos ICP, Quixabeira VBL, Mrué F, Santos NSP, Cardoso CG, Chen LC, de Melo Bisneto AV, Pontes SRL, Reis PRM 2024. Angiogenic potential of “Quina do Cerrado” (*Strychnos pseudoquina* A.St.-Hil.). *Rev Bras Pantas Med* 26:11-19.

Sarandy MM, Novaes RD, Xavier AA, Vital CE, Leite JPV, Melo FCSA, Gonçalves RV 2017. Hydroethanolic extract of *Strychnos pseudoquina* accelerates skin wound healing by modulating the oxidative status and microstructural reorganization of scar tissue in experimental type I diabetes. *BioMed Res Int* 9538351.

Semenov VA, Samultsev DO, Krivdin LB 2020. ¹H and ¹³C NMR spectra of *Strychnos* alkaloids: selected NMR updates. *Int J Quantum Chem* 120(19):e26348.

Setubal RB, Frasier CL, Molina J, Torke BM, Forzza RC, Struwe L 2021. A toxic story: phylogeny and classification of *Strychnos* L. (Loganiaceae). *Syst Bot* 46(3):639-655.

Struwe L, Gibbons KL, Conn BJ, Motley TJ 2018. Loganiaceae (including Antoniaceae, Geniostomaceae, Spigeliaceae, and Strychnaceae). In *The Families and Genera of Flowering Plants*, vol.15, eds. J. W. Kadereit and V. Bittrich. Berlin: Springer Verlag.