

Artigo

Constituintes Químicos de *Swartzia oblata* e Avaliação Antitumoral

da Silva, H. P.; Borges, F. V.; Abreu, K. M. P.; Vieira, I. J. C.; Araujo, M. F.*

Rev. Virtual Quim., 2019, 11 (5), 1433-1443. Data de publicação na Web: 22 de outubro de 2019

<http://rvq.sbq.org.br>**Chemical Constituents from *Swartzia oblata* and Antitumoral Activity Evaluation**

Abstract: First phytochemical study from *Swartzia oblata* resulted of the hexane fraction from wood, the isolation of a mixture of macrolides Lasiodiplodin (**1**) and O-methyl-lasiodiplodin (**2**) isolated for the first time in the genus and the mixture of phytosterols campesterol (**3**) and sitosterol (**4**). The structures were established after analysis of ^1H and ^{13}C NMR (1D and 2D), MS and comparison with literature data. The study of this fraction was oriented after phytochemical prospecting and analysis by ^1H NMR of leaf and wood fractions besides the analysis of the antitumor activity of fractions against U937 histiocytic lymphoma cells. The results indicated the hexane fractions of leaves ($\text{EC}_{50} = 276 \pm 1.2 \text{ mg / mL}$) and wood ($\text{EC}_{50} = 230 \pm 1.1 \text{ mg / mL}$) as the most active.

Keywords: *Swartzia oblata*; macrolides; antitumor activity; phytochemical analysis; lymphoma U937.

Resumo

O primeiro estudo fitoquímico de *Swartzia oblata* resultou, da fração em hexano da madeira, o isolamento de uma mistura de macrolídeos Lasiodiplodina (**1**) e O-metil-lasiodiplodina (**2**), isolados pela primeira vez no gênero, e a mistura de fitoesteróis campesterol (**3**) e sitosterol (**4**). As estruturas foram estabelecidas após análise dos espectros de RMN ^1H e ^{13}C (1D e 2D), EM e comparação com dados da literatura. O estudo fitoquímico desta fração iniciado após prospecção fitoquímica e análise por RMN de ^1H de frações de folhas e madeira além da análise da atividade antitumoral das frações frente a células de linfoma histiocítica U937. Os resultados indicaram as frações em hexano de folhas ($\text{EC}_{50} = 276 \pm 1,2 \text{ mg/mL}$) e da madeira ($\text{EC}_{50} = 230 \pm 1,1 \text{ mg/mL}$) como mais ativas.

Palavras-chave: *Swartzia oblata*; macrolídeos; atividade antitumoral; análise fitoquímica; linfoma U937.

* Instituto Federal Fluminense, campus Campos-Guarus, Av. Souza Mota 350, Pq Fundão, CEP 28060-010, Campos dos Goytacazes-RJ, Brasil.

✉ marcelo.araujo@iff.edu.br

DOI: [10.21577/1984-6835.20190099](https://doi.org/10.21577/1984-6835.20190099)

Constituintes Químicos de *Swartzia oblata* e Avaliação Antitumoral

Hector Pita da Silva,^a Karla Maria Pedra de Abreu,^b Franz Viana Borges,^c
Ivo José Curcino Vieira,^d Marcelo Francisco de Araujo^{a,*}

^a Instituto Federal Fluminense, campus Campos-Guarus, Núcleo de Pesquisa em Química Pura e Aplicada-NPQA, Av. Souza Mota 350, Pq Fundação, CEP 28060-010, Campos dos Goytacazes-RJ, Brasil.

^b Instituto Federal do Espírito Santo-IFES, campus Alegre, Laboratório de Botânica, Rodovia BR 482, Km 47, s/n, Rive, CEP 29520-000, Alegre-ES, Brasil.

^c Instituto Federal Fluminense-IFF, campus Campos-Centro, R. Doutor Siqueira 273, Pq Tamandaré, CEP 28060-010, Campos dos Goytacazes-RJ, Brasil.

^d Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Laboratório de Ciências Químicas, Pq Califórnia, CEP 28013-602, Campos dos Goytacazes-RJ, Brasil.

* marcelo.araujo@iff.edu.br

Recebido em 30 de setembro de 2019. Aceito para publicação em 30 de setembro de 2019

1. Introdução

2. Resultados e Discussão

- 2.1. Determinação estrutural das substâncias
- 2.2. Prospecção fitoquímica
- 2.3. Avaliação antitumoral

3. Experimental

- 3.1. Procedimentos experimentais gerais
- 3.2. Material vegetal
- 3.3. Extração e isolamento
- 3.4. Atividade antitumoral

4. Conclusão

1. Introdução

O gênero *Swartzia* Schreb., pertence à família Fabaceae, sub-família Papilonoideae (ordem Fabales) com ocorrência de 111

espécies no Brasil, das quais 62 são endêmicas, onde apenas dez foram estudadas em âmbito fitoquímico.¹⁻¹⁴ Espécies deste gênero são caracterizadas pela produção de flavonoides com atividade larvicida, antibacteriana e antifúngica; saponinas com atividade moluscocida, larvicida e ictiotóxica e

outros metabólitos secundários bioativos tais como: pterocarpanos e diterpenos com potencial antimicrobiano.¹⁻¹⁴ A espécie *S. oblata*, conhecida popularmente como “grão-de-bode”, é caracterizada por árvores de médio porte, de 5 a 15 metros de altura, que apresentam frutos grandes pendurados no tronco e galhos.^{15,16} O presente trabalho

apresenta resultados obtidos pela prospecção fitoquímica, avaliação antitumoral frente a células de linfoma histiocítica U937 e isolamento e determinação estrutural uma mistura de macrolídeos, lasiodiplodina (**1**) e *O*-metil-lasiodiplodina (**2**), isolados pela primeira vez no gênero, e a mistura de fitoesteróis campesterol (**3**) e sitosterol (**4**).

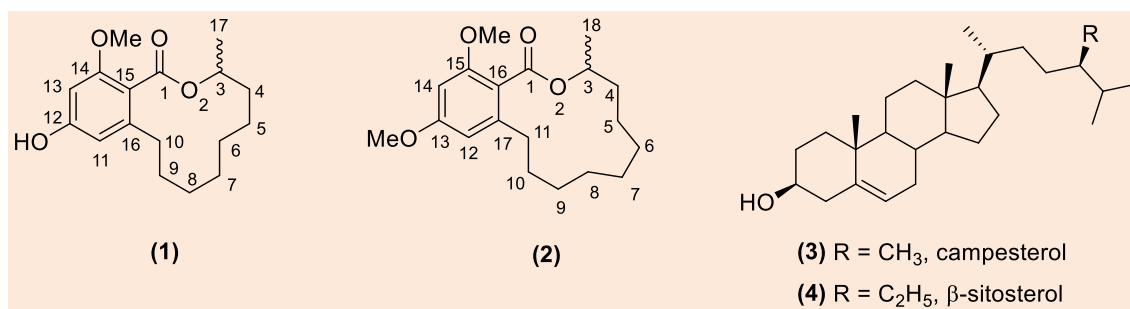


Figura 1. Metabólitos secundários isolados de *S. oblata*

2. Resultados e Discussão

2.1. Determinação estrutural das substâncias

O tratamento cromatográfico da fração Fr.C4 44-51, *vide metodologia*, resultou no isolamento da mistura de macrolídeos lasiodiplodina (**1**) e *O*-metil-lasiodiplodina (**2**),

obtida como um sólido branco cristalino, solúvel em CH₂Cl₂.

A análise por Cromatografia a Gás resultou em um cromatograma com dois picos majoritários com 89,95 % e 3,07 % de área, que ao serem analisados por Espectrometria de Massas, apresentou espectros com íons moleculares de [M⁺] 292 e 320 Daltons, sugerindo as fórmulas moleculares de C₁₇H₂₄O₄ e C₁₉H₂₈O₄, respectivamente (Figuras 2-4).

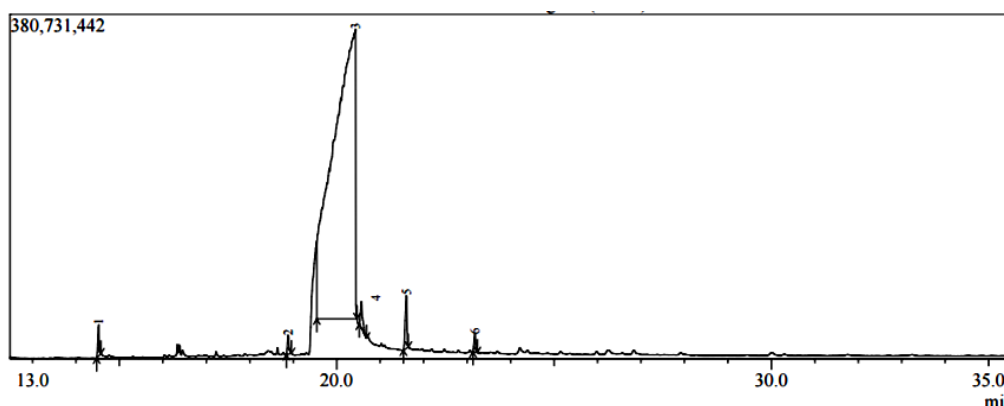


Figura 2. Cromatograma obtido por Cromatografia a Gás da mistura Lasiodiplodina e *O*-metil-lasiodiplodina

Line#: 3 R.Time: 20.433(Scan#: 1973) MassPeaks: 337
 RawMode: Averaged 20.425-20.442(1972-1974) BasePeak: 137.65(16999241)
 BG Mode: Calc. from Peak

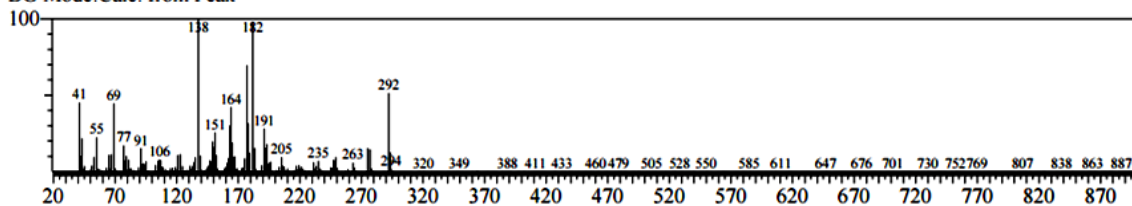


Figura 3. Espectro de Massas (70 eV) da lasiodiplodina

Line#: 7 R.Time: 21.433(Scan#: 2093) MassPeaks: 346
 RawMode: Averaged 21.425-21.442(2092-2094) BasePeak: 182.00(801904)
 BG Mode: Calc. from Peak

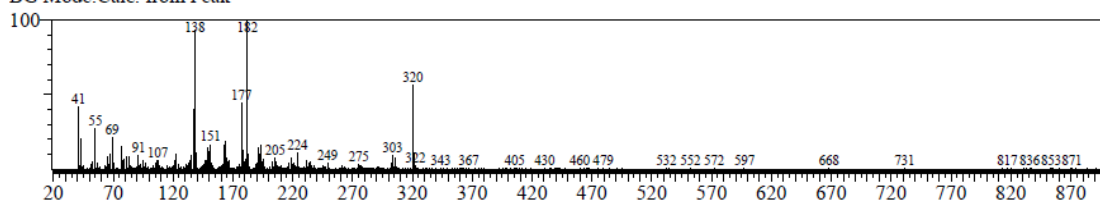


Figura 4. Espectro de Massas (70 eV) da O-metil-lasiodiplodina

O espectro de RMN de ^1H exibiu um sinal duplo em d_{H} 1,31 (d , $J = 6,4$ Hz) atribuído aos hidrogênios metílicos 3H-17, um multipletto entre d_{H} 2,47-2,64 ppm atribuído a hidrogênios metilênicos enantiotópicos 2H-10. Dois sinais simples em d_{H} 3,70 e 3,71 foram atribuídos a metoxilas, dois simpletos em d_{H} 6,22 e 6,20 atribuídos aos hidrogênios ligados a carbonos de anel aromático H-11 e H-13 e o multipletto entre d_{H} 5,29-5,26 ppm atribuído a hidrogênio metínico H-3. O multipletto entre d_{H} 1,64-1,60 ppm foram atribuídos aos hidrogênios de grupos metilenos. Os acoplamentos entre os hidrogênios dos grupos metilênicos foram observados através de mapa de correlação homonuclear ^1H - ^1H -COSY. O espectro de RMN de ^{13}C -DEPTQ exibiu 17 sinais majoritários sustentando a análise CG-EM que exibiu como substância majoritária a lasiodiplodina (**1**).¹⁷⁻¹⁹ Os sinais foram assinalados como sendo: um sinal de metila em d_{CH_3} 19,50; oito sinais de metilenos, três carbonos metínicos sendo dois sp^2 em d_{CH} 96,9 e 108,3 um carbinólico em d_{CH}

72,4 e quatro carbonos não-hidrogenados, sendo três sp^2 além de um carbonílico ligado a anel aromático em d_{C} 169,17. O mapa de correlação Heteronuclear a uma ligação ^1H - ^{13}C -HSQC sustentou a atribuição inequívoca dos deslocamentos químicos dos carbonos. Este possibilitou confirmar a presença de sete carbonos metilênicos e dois carbonos aromáticos. O mapa de correlação heteronuclear a duas e três ligações ^1H - ^{13}C -HMBC auxiliou na construção estrutural exibindo correlações que possibilitaram determinar os pontos de ligação nas substâncias, com acoplamentos entre $^4J_{\text{H}\rightarrow\text{C}}$ entre 6,22 (s , H-11) e 169,2 (C-1); 2,64 (m , H-10) e 2,67 (m , Hb-10) com C-16 em d_{C} 143,0; as demais correlações estão apresentadas na Tabela 1. A análise do conjunto de dados juntamente aliados a comparação com dados da literatura conduziram a identificação e elucidação estrutural de dois macrolídeos lasiodiplodina e O-metil-lasiodiplodina, inéditos no gênero *Swartzia*.

Tabela 1. Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e de ^{13}C (125 MHz) da Lasiodiplodina **1**, em CDCl_3 *

Carbônio	Tipo	HSQC		HMBC	
		d_C	d_H	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
1	C	169,17	-		H-11 ($^4J_{\text{CH}}$)
3	CH	72,43	5,29 (m), 5,26 (m)	3H-17	
4	CH ₂	32,33	1,93 (m), 1,56 (m)		3H-17
5	CH ₂	21,31	1,65 (m), 1,48 (m)		
6	CH ₂	24,16	1,49 (m), 1,28 (m)		
7	CH ₂	26,40	1,43 (m)		
8	CH ₂	25,45	1,64 (m), 1,46 (m)	2H-9	2H-10
9	CH ₂	30,06	1,63 (m), 1,28 (m)	2H-10	
10	CH ₂	30,38	2,64 (m), 2,47 (m)	H-9a	
11	CH	108,33	6,22		2H-10; H-13
12	C	157,93	-		MeO-12
13	CH	96,96	6,20		H-11
14	C	157,67	-	H-13	
15	C	117,34	-		2H-10; H-11; H-13
16	C	143,01	-	2H-10	
17	CH ₃	19,50	1,31 (d, 6,4)		
14	OCH ₃	55,79	3,70 (s)		

* Número de hidrogênios ligados a átomos de carbono deduzidos pela análise comparativa do Espectro de RMN ^{13}C DEPTQ. Deslocamentos químicos e constantes de acoplamento (J em Hz, entre parênteses) obtido a partir do espectro de RMN de ^1H . Os sinais ^1H sobrepostos são descritos sem multiplicidade e deslocamentos químicos deduzidos pelos espectros HSQC, HMBC e ^1H - ^1H -COSY

A mistura de fitoesteróis campesterol+sitosterol (**3+4**) foi obtida após tratamento cromatográfico da fração **Fr.C2** 19-31 que conduziu a obtenção de cristais incolores, solúveis em CH_2Cl_2 .

A análise por Cromatografia a Gás exibiu cromatograma com dois picos majoritários que apresentaram espectros de massas com íons moleculares de M^+ 400 e 414 Daltons, compatíveis com as fórmulas moleculares $\text{C}_{28}\text{H}_{48}\text{O}$ e $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}$, sugerindo a mistura de fitoesteróis conhecidos: campesterol+sitosterol (**3+4**). O espectro de RMN de ^1H da mistura e comparação com dados da literatura

corroboraram os dados obtidos na Espectrometria de Massas.²⁰

2.2. Prospecção fitoquímica

Os resultados da prospecção fitoquímica estão apresentados na Tabela 2. Dentre os ensaios para identificação das classes de metabólitos secundários foi possível confirmar ausência de alcaloides e cumarinas em todas as frações dos materiais vegetais. Esses resultados são compatíveis com os dados químicos do gênero.¹⁻¹⁴ O ensaio químico para detecção de

flavonoides mostrou que esta classe de metabolito secundário está onipresente nas frações de média a alta polaridade. Os espectros de RMN de ^1H exibiram sinais região de d_{H} 6,0 – 8,0 ppm característicos de flavonas e flavonóis.²¹ Além dos sinais característicos de esqueletos flavonoídicos, os espectros das frações em acetato de etila e *n*-butanol das folhas, exibiram sinais entre d_{H} 3,30 – 5,40 ppm característicos de resíduos de açúcares.²² A formação de espuma persistente, em soluções aquosas dessas frações, atrelados a sinais compatíveis com triterpenos, observados nos espectros de RMN de ^1H , sugerem também a presença de saponinas.^{5-8, 23-24}

A Reação de Lieberman-Bouchard confirmou a presença de triterpenos e esteroides nas frações de baixa polaridade (Tabela 2). Este resultado foi sustentado após análise dos espectros de RMN de ^1H das frações em hexano, que exibiu sinais entre d_{H} 0,72- 1,02 característicos de hidrogênios de metilas e metilenos, multipeto em d_{H} 3,50 compatível com hidrogênios de carbonos carbinólicos e os sinais em d_{H} 5,10 – 5,40 característicos de hidrogênios de carbonos olefínicos comuns em fitoesteróides como estigmasterol e sitosterol.²⁰

Tabela 2. Prospecção Fitoquímica de frações da madeira e folhas de *S. oblata*

Metabólitos secundários	Reações de caracterização	Frações das Folhas			Frações da Madeira		
		SOFH	SOFA	SOFB	SOMH	SOMA	SOMB
Alcaloides	Reação com Dragendorff	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Cumarinas	Reação com KOH 5 % em MeOH	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Flavonoides	Reação de Shinoda	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)
Saponinas	Índice de espuma	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)
Taninos	Reação com FeCl ₃ 2 %	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)
Triterpenos	Reação de Liberman-Bouchard	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)
Esteroides	Reação de Liberman-Bouchard	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)

SOFH: *Swartzia oblata* Folhas Hexano; SOFA: *Swartzia oblata* Folhas Acetato de etila; SOFB: *Swartzia oblata* Folhas *n*-Butanol; SOMH: *Swartzia oblata* Madeira Hexano; SOMA: *Swartzia oblata* Madeira Acetato de etila; SOMB: *Swartzia oblata* Madeira *n*-Butanol

2.3. Avaliação antitumoral

O experimento para avaliação do efeito citotóxico ou citostático dos compostos foi realizado através do microensaio colorimétrico utilizando MTT Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazólio. Todas as frações testadas apresentaram

capacidade discreta de redução da viabilidade da linhagem de célula testada, sendo a fração em hexano da madeira-SOMH com maior eficácia, principalmente na concentração 400 μM , dentre as frações testadas, Figura 5. Nessa figura pode ser visto também que essa linhagem mostrou alta resistência frente as frações, principalmente a baixas concentrações.

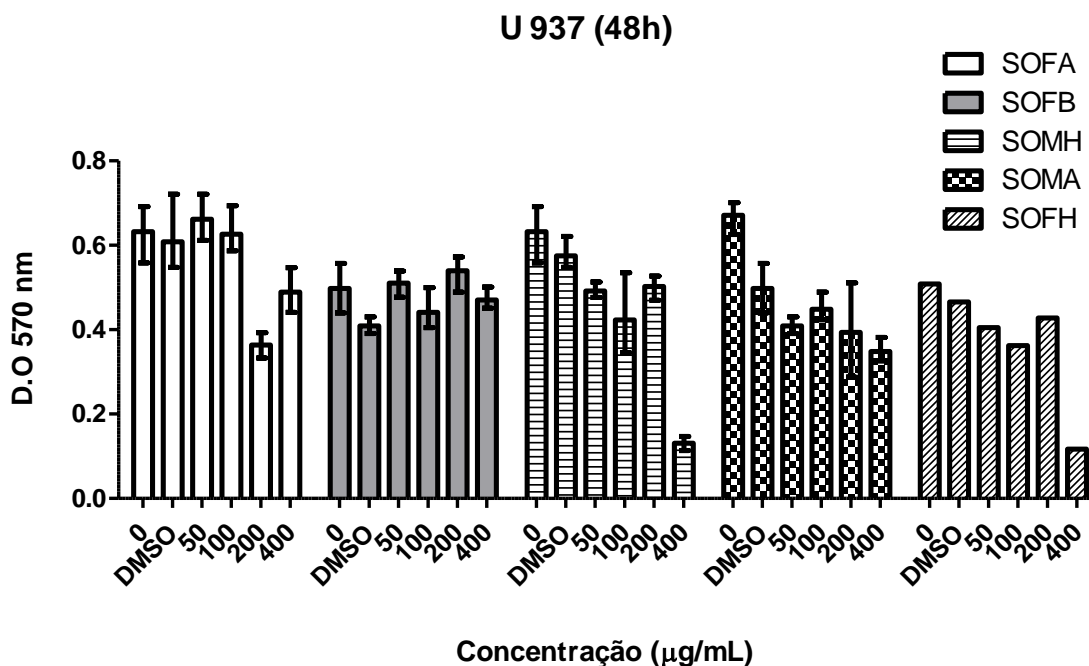


Figura 5. Ensaio de Viabilidade celular para extratos de *Swartzia oblata*, através do ensaio de MTT. As células foram incubadas com diferentes concentrações dos extratos por 48h

Para efeito de uma melhor comparação da atividade das frações frente às células testadas foi feito o cálculo de dose efetiva 50 % (concentração dos compostos capaz de induzir morte em 50 % das células tratadas). A IC₅₀ foi determinada utilizando o programa GraphPad Prism versão 4.0. através da curva de regressão não-linear. Analisando os dados

da tabela 3, pode-se observar, em geral, que as frações de baixa polaridade exibiram os menores valores de IC₅₀ e as frações polares das folhas as maiores. A menor IC₅₀ foi obtida no tratamento das células U937 com a fração em hexano da madeira, onde 230 µg/mL foi capaz de induzir morte em 50 % das células após 36 horas.

Tabela 3. IC₅₀ (µg/mL) das frações sobre a viabilidade celular baseado no ensaio de citotoxicidade celular por MTT

Frações	U937 (µg/mL)
Hexano Folha(SOFH)	276 ± 1,2
AcOEt Folha(SOFA)	>400
Butanol Folha (SOFB)	>400
Hexano Madeira(SOMH)	230 ± 1,1
AcOEt Madeira(SOMA)	388 ± 1,4

O desenvolvimento de resistência dos tumores a fármacos antitumorais é um grande obstáculo no sucesso da quimioterapia.²⁵ Neste sentido, existem diversos grupos de pesquisa empenhados na busca de novas

substâncias potencialmente eficazes no combate ao câncer. E, dentre a estratégias utilizadas, destacam-se a triagem de extratos vegetais e metabólitos secundários. Essa proposta motivou avaliar as frações obtidas

de folhas e madeiras de *S. oblata*. Como supracitado, espécies do gênero *Swartzia*, são caracterizadas pela produção de compostos fenólicos (flavonóides e pterocarpanos), saponinas e diterpenos. Metabólitos secundários destas classes possuem estudos consolidados na literatura envolvendo atividade antitumoral. Flavonoides como canferol, quercetina e apigenina apresentam atividades frente a variados tipos de células tumorais e com mecanismos de ação variados.²⁶ Atividade antitumoral de saponinas isoladas de uma variedade de plantas está relacionada com diferentes mecanismos no controle do ciclo celular e indução apoptótica.²⁷⁻²⁹ A presença de macrolídeos na fração possibilita indicar que esses metabólitos contribuem para a atividade da fração uma vez que, o macrolídeo lasiodiplodina (**1**) possui relato de potencial antileucêmico publicado na literatura.¹⁸ Diante do exposto, a o potencial antitumoral encontrado nas frações motiva o isolamento e purificação dos metabólitos secundários e posterior análise.

3. Experimental

3.1. Procedimentos experimentais gerais

As análises cromatográficas a gás e os espectros de massa de baixa resolução-EMBR foram obtidos em um equipamento Shimadzu GC-MS-QP2010 Plus (Shimadzu, Tóquio, Japão) equipado com uma coluna capilar de Rtx-5MS WCOT (Restek, 30 m x 0,25 mm; espessura do filme = 0,25 m). A programação de temperatura utilizada para análise foi de: 60 °C por 1 min (isotérmico), elevado a 12 °C/min até 120 °C e, em seguida, 10 °C/min até 320 °C, finalizando com 5 min a 320 °C (isotérmico). O hélio foi utilizado como gás de arraste a 1,90 ml/min, a temperatura do injetor era de 250 °C. Os espectros de massa foram obtidos no modo Ionização por impacto de elétrons (70 eV), varrendo no intervalo de m/z 45-850 com um tempo de 1 s de ciclo. A

identificação das substâncias baseou-se na comparação de espectros de massas com o banco de dados da biblioteca NIST, publicação de periódicos e padrões reais.

As Cromatografias em Coluna foram realizadas usando sílica gel 60 (0,063-0,2 mm) e para as análises por CCD empregou-se cromatoplaças de gel de sílica 60 F254 da Merck®. Os solventes usados na extração e eluição cromatográfica (fase móvel) foram da Synth®.

Os espectros de RMN de ¹H e de ¹³C foram obtidos num espectrômetro Brüker Ultrashield 500 Plus, operando a 500 (¹H) e 125 (¹³C) MHz. O CDCl₃ foi utilizado como solvente com TMS como referência interna. Os deslocamentos químicos (δ) foram dados em ppm e as constantes de acoplamento (J) em Hz. Os espectros de RMN unidimensionais (1D) de ¹H e ¹³C-RMN foram adquiridos sob condições padrão utilizando uma sonda dupla de detecção direta de 5 mm ¹H/¹³C. Sequências padrão de pulso foram usadas para espectros bidimensionais usando uma sonda de detecção inversa multinuclear de 5 mm com gradiente de campo.

3.2. Material vegetal

A espécie *S. oblata* foi coletada na Mata do Mergulhão, Campos dos Goytacazes-RJ, em dezembro de 2014 (21°46'47"S e 41°15'35"W) e a amostra testemunha (H2639) encontra-se depositada no Herbário Universidade Estadual do Norte Fluminense (HUENF).

3.3. Extração e isolamento

A secagem do material vegetal, folhas (1,18 Kg) e madeira (4,75 Kg), foram realizadas ao ar livre. Os materiais, após secos, foram triturados e submetidos a extração através de maceração exaustiva à temperatura ambiente, utilizando como solvente extrator etanol. A solução obtida foi destilada à pressão reduzida em evaporador rotativo,

resultando nos extratos, que foram solubilizados em metanol/H₂O (7:3) e particionados com solventes em escala crescente de polaridade obtendo frações em hexano, acetato de etila (AcOEt) e n-butanol.

Após obtenção das frações, as mesmas foram submetidas a espectrometria de RMN de ¹H e prospecção fitoquímica envolvendo ensaios químicos.²³⁻²⁴

A fração em hexano da madeira (10,4 g) foi submetida a cromatografia em coluna (CC) usando gel de sílica como fase estacionária e hexano/acetona como fase móvel em modo gradiente de polaridade até acetona 100 %. Este procedimento resultou em 35 frações de 150 mL que foram analisadas por cromatografia em camada delgada analítica CCDA e reunidas de acordo com o perfil cromatográfico em cinco frações denominadas: Fr.A 1-7 (2,45 g); Fr.B 8-12 (3,87 g); Fr.C 13-21 (2,34 g); Fr.D 22-28 (0,536 g) e Fr.E 29-35 (0,819 g).

A fração Fr.C 13-21 (2,34 g) foi submetida a CC usando gel de sílica e fase móvel hexano e acetona em modo gradiente de polaridade até acetona 30 %, obtendo 80 frações de 30 mL. Estas foram analisadas por CCDA e reunidas de acordo com o perfil cromatográfico e denominadas de: Fr.C 11-18 (538 mg), Fr.C2 19-31(1,08 g), Fr.C3 32-43 (325 mg), Fr.C4 44-51 (28 mg) e Fr.C5 52-80 (293 mg).

A fração Fr.C4 44-51 (28 mg) resultou no isolamento de um sólido branco cristalino, solúvel em CH₂Cl₂ que apresentou coloração rósea ao ser revelada em reagente de vanilina sulfúrica e coloração azul escura ao ser revelada por UV 254 nm. A fração Fr.C2 19-31 (1,08 g) apresentou grande quantidade de cristais incolores. Esta foi lavada com metanol gelado e recristalizada com acetona fornecendo (300 mg) de cristais solúveis em CH₂Cl₂.

3.4. Atividade antitumoral

3.4.1. Cultura das linhagens de células de origem neoplásica

As células de origem leucêmica humana U937 (linhagem linfóide) foram adquiridas da *American Type Culture Collection* (ATCC). A linhagem foi cultivada em meio D-MEM F12 (Gibco, BRL) suplementado com 20 µg/mL de gentamicina (Gibco, BRL) e 10 % de soro fetal bovino (Gibco, BRL). As células foram mantidas em estufa (Forma Scientific Inc., modelo 3159) a 37 °C, com 5 % de CO₂ e umidade controlada e o meio de cultivo foi trocado a cada 2 dias.

3.4.2. Avaliação da viabilidade celular por metabolização do MTT brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tretazólio

A viabilidade celular foi determinada através de microensaio colorimétrico utilizando MTT (Sigma, M2128). Tal metodologia foi descrita por Mosmann (1983), e consiste na redução do MTT a formazam, composto de cor púrpura, pela succinato desidrogenase mitocondrial. Para esse ensaio, as células leucêmicas (U937) foram plaqueadas em volume de 100 µL/poço (1x10⁶ cels/mL) em placas de 96 poços e tratadas com as frações nas concentrações finais de trabalho (400, 200, 100 e 50 µM). Após 36 horas de incubação com as frações foram adicionados 10 µL de MTT (Sigma, 5 mg/mL) para cada 100 µL de cultivo. As placas foram mantidas na estufa por quatro horas. Após esse período, foram retirados 150 µL do sobrenadante de cada poço e depois adicionados 100 µL de uma solução de HCl com isopropanol, homogeneizando bem até a completa dissolução dos cristais de sal formados. A placa de 96 poços foi lida em espectrofotômetro (Epoch™, BioTek® Instruments, Inc.) utilizando o comprimento de onda de 570 nm. O experimento foi realizado em triplicata.

4. Conclusão

A prospecção fitoquímica e análise espectroscópica por RMN de ^1H das frações de *S. oblata* possibilitaram a confirmação de classes de metabólitos secundários comuns no gênero. Essa análise, em conjunto com a investigação do potencial antitumoral, possibilitou selecionar as frações mais promissoras para estudo de isolamento e purificação de metabólitos secundários.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo suporte financeiro e ao Laboratório de Ciências Químicas da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro pela aquisição dos espectros de RMN.

Referências Bibliográficas

- ¹ Sanchez, C. S.; Rocha, A. F. I.; Pinheiro, M. L. B.; Andrade, C. H. S.; Monte, F. J. Q.; Brachyrachisina: Isoflavona Inédita de *Swartzia* (Leguminosae). *ACTA Amazônica* **1999**, *29*, 419. [CrossRef]
- ² Cavalcanti, M. S. M.; Coelho, L. C. B. B.; Isolation and Partial purification of a Lectin from *Swartzia pickellii* Killip (White Jacaranda). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **1990**, *85*, 371. [CrossRef]
- ³ Dubois, J. L.; Sneden, A. T.; Dihydrolicoisoflavone, a new isoflavanone from *Swartzia polyphylla*. *Journal of Natural Products* **1995**, *58*, 629. [PubMed] [CrossRef]
- ⁴ Rojas, R.; Bustamante, B.; Ventosilla, P.; Fernández, I.; Caviedes, L.; Gilman, R. H.; Lock, O.; Hammond, G. B.; Larvicidal, Antimicrobial and Antifungal Compounds from the Bark of the Peruvian Plant *Swartzia polyphylla* DC. *Chemical Pharmaceutical Bulletin* **2006**, *54*, 278. [CrossRef] [PubMed]
- ⁵ Araujo, M. F.; Vieira-da-Motta, O.; Vieira, I. J. C.; Braz-Filho, R.; Mathias, L.; Chemical constituents from *Swartzia apetala* Raddi var. *glabra* and evaluation of their antifungal activity against *Candida* spp. *Revista Brasileira de Farmacognosia* **2009**, *19*, 366. [CrossRef]
- ⁶ Araujo, M. F.; Vieira, I. J. C.; Sant'anna, C. M. R.; Silva, D. R.; Vitorino, M. A. I.; Braz-Filho, R.; Vieira-da-Motta, O.; Mathias, L.; New triterpene glycoside and other chemical constituents from the leaves of *Swartzia apetala* Raddi var. *glabra*. *Natural Product Research* **2013**, *27*, 1. [CrossRef]
- ⁷ Abdel-kader, M. S.; Bahler, B. D.; Malone, S.; Werkhoven, M. C. M.; Wisse, J. H.; Neddermann, K. M.; Bursuker, I.; Kingston, D. G. I.; Bioactive saponins from *swartzia schomburgkii* from the Surinami rainforest. *Journal Natural Products* **2000**, *63*, 1461. [CrossRef]
- ⁸ Magalhães, A. F.; Tozzi, A. M. G. A.; Santos, C. C.; Serrano, D. G.; Zanotti-Magalhães, E. M.; Magalhães, E. G.; Magalhães, L. A.; Saponins from *Swartzia langsdorffii*: Biological Activities. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **2003**, *98*, 713. [CrossRef] [PubMed]
- ⁹ Dubois, J. L.; Sneden, A. T.; Ferreirinol, a New 3-Hydroxyisoflavanone from *Swartzia polyphylla*. *Journal of Natural Products* **1996**, *59*, 902. [CrossRef]
- ¹⁰ Neuwinger, H. D.; Plants used for poison fishing in tropical África. *Toxicon* **2004**, *44*, 417. [CrossRef]
- ¹¹ Donnelly, D. M. X.; Fitzgerald, M. A.; Pterocarpanoids constituents of *Swartzia leiocalycina*. *Phytochemistry* **1971**, *10*, 3147. [CrossRef]
- ¹² Braz-Filho, R.; Moraes, M. P. L.; Gottlieb, O. R.; Pterocarpanoids from *Swartzia laevicarpa*. *Phytochemistry* **1980**, *19*, 2003. [CrossRef]
- ¹³ Favre-Godal, Q.; Dorsaz, S.; Queiroz, E. F.; Marcourt, L.; Ebrahimi, S. N.; Allard, P. M.;

- Voinesco, F.; Hamburger, M.; Gupta, M. P.; Gindro, K.; Sanglard, D.; Wolfender, J. L.; Anti-Candida Cassane-Type Diterpenoids from the Root Bark of *Swartzia simplex*. *Journal of Natural Products* **2015**, *78*, 2994. [CrossRef]
- ¹⁴ Magalhães, A. F.; Tozzi, A. M. G. A.; Santos, C. C.; Magalhães, E. G.; Swartziarboreol Diterpenes from *Swartzia langsdorffii* Raddi. *Journal of Natural Products* **2005**, *68*, 1290. [CrossRef]
- ¹⁵ Mansano, F. V.; Tozzi, A. G. M. A.; The taxonomy of some Swartzieae (Leguminosae, subfam. Papilionoideae) from southeastern Brazil. *Brittonia* **1999**, *51*, 149. [CrossRef]
- ¹⁶ Mansano F. V.; Lima J. R.; O Gênero *Swartzia* Schreb. (Leguminosae, Papilionoideae) no Estado do Rio de Janeiro. *Rodriguésia* **2007**, *58*, 469. [CrossRef]
- ¹⁷ Aldridge, D. C.; Galt, S.; Giles, D.; Turner, W. B.; Metabolites of *Lasiodiplodia theobromae*. *Journal of the Chemical Society C: Organic* **1971**, 1623. [CrossRef]
- ¹⁸ Leet, K. H.; Hayashi, N.; Okano, M.; Hall, I. H.; Wu, R. Y.; Mcphailti, A. T.; Lasiodiplodin, a potent antileukemic macrolide from *Euphorbia splendens*. *Phytochemistry* **1982**, *21*, 1119. [CrossRef]
- ¹⁹ Sousa, L. M.; Gois, R. W. S.; Lemos, T. L. G.; Arriaga, A. M. C.; Andrade-Neto, M.; Santiago, G. M. P.; Braz-Filho, R.; Costa, J. G. M.; Rodrigues, F. F. G.; Constituintes Químicos e Avaliação da Atividade Antibacteriana de *Macroptilium lathyroides* (L.) Urb. (Fabaceae). *Química Nova* **2013**, *36*, 1370. [CrossRef]
- ²⁰ Araujo, M. F.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Brasil, 2007. [Link]
- ²¹ Markham, K. R.; Mabry, T. J.; *Ultraviolet Visible and Magnetic Resonance Spectrometry of Flavonoids*. Chapman and Hill: London, 1975.
- ²² Lambert, J. B.; Shurvell, H. F.; Lightner, D.; Cooks, R. G.; *Introduction to Organic Spectroscopy*. Macmillan Publishing Company: New York, 1987.
- ²³ Matos, F. J. A.; *Introdução a fitoquímica experimental*, 2ed. Edições UFC: Fortaleza, 1997.
- ²⁴ Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Gosmann, G.; Mello, J. C. P.; Mentz, L. A.; Petrovick, P. R.; *Farmacognosia: Da planta ao medicamento*. Editora UFRGS: Porto Alegre, 2007.
- ²⁵ Kohno, K.; Uchiumi, T.; Niima, I.; Wakasugi, T.; Igarashi, I.; Momii, Y.; Yoshida, T.; Matsuo, K.; Miyamoto, N.; Izumi, H. A.; Transcription factors and drug resistance. *European Journal of Cancer* **2005**, *41*, 2577. [CrossRef]
- ²⁶ Narayana, K. R.; Reddy, M. S.; Chaluvadi, M. R.; Krishna, D. R.; Biflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian Journal of Pharmacology* **2001**, *33*, 2. [Link]
- ²⁷ Mimaki, Y.; Kuroma, M.; Asano, T.; Sashida, Y.; Triterpene saponins and lignans from the roots of *Pulsatilla chinensis* and their cytotoxic activity against HL-60 cells. *Journal of National Products* **1999**, *62*, 1279. [CrossRef]
- ²⁸ de Tommasi, N.; Autore, G.; Bellino, A.; Pinto, A.; Pizza, C.; Sorrentino, R.; Venturella, P.; Antiproliferative triterpene saponins from *Trevesia palmate*. *Journal of National Products* **2000**, *63*, 308. [CrossRef]
- ²⁹ Wang, Z.; Zhou, J.; Ju, Y.; Zhang, H.; Liu, M.; Li, X.; Effects of two saponins extracted from the *Polygonatum zanlancianense* pamp on the human leukemia (HL-60) cells. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* **2001**, *24*, 159. [PubMed]
- ³⁰ Sítio árvores do Brasil. Disponíveis em: <<https://www.arvores.brasil.nom.br/new/grabode/index.htm>>. Acesso em: 15 maio 2019.