

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E ENGENHARIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E  
MELHORAMENTO**

AUGUSTO CÉSAR SANTOS OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO TOXICOGENÉTICA, ANTIOXIDANTE E FITOQUÍMICA DOS  
EXTRATOS DE *Cissus verticillata* Nicolson & C. E. Jarvis (Vitaceae) EM  
*Allium cepa* L.**

VITÓRIA  
2021

AUGUSTO CÉSAR SANTOS OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO TOXICOGENÉTICA, ANTIOXIDANTE E FITOQUÍMICA DOS  
EXTRATOS DE *Cissus verticillata* Nicolson & C. E. Jarvis (Vitaceae) EM  
*Allium cepa* L.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Genética e Melhoramento, na área de concentração de Biologia Evolutiva e Citogenética.

Orientadora: Prof. Dra. Silvia Tamie Matsumoto.

Coorientador: Prof. Dr. Hildegardo Seibert França.

VITÓRIA  
2021

## **AUGUSTO CÉSAR SANTOS OLIVEIRA**

### **AVALIAÇÃO TOXICOGENÉTICA, ANTIOXIDANTE E FITOQUÍMICA DOS EXTRATOS DE *Cissus verticillata* Nicolson & C. E. Jarvis (Vitaceae) EM *Allium cepa* L.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, para obtenção do título de Mestre em Genética e Melhoramento, linha de pesquisa Citogenética e Biologia evolutiva e área de concentração Mutagênese.

Aprovada em 29 de julho de 2021.

#### **COMISSÃO EXAMINADORA**

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup>. Silvia Tamie Matsumoto  
Universidade Federal do Espírito Santo  
Orientadora

---

Prof. Dr. Hildegardo Seibert França  
Instituto Federal do Espírito Santo  
Coorientador

---

Prof. Dr.<sup>a</sup>. Milene Miranda Praça Fontes  
Universidade Federal do Espírito Santo  
Examinador Interno

---

Prof. Dr.<sup>a</sup>. Livia Rocha Dorsch  
Secretaria de Estado da Educação  
Examinador Externo

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

---

O48a Oliveira, Augusto César Santos, 1994-  
Avaliação toxicogenética, antioxidante e fitoquímica dos extratos de *Cissus verticillata* Nicolson & C. E. Jarvis (Vitaceae) em *Allium cepa* L. / Augusto César Santos Oliveira 2021.  
60 f. : il.

Orientadora: Silvia Tamie Matsumoto.  
Coorientador: Hildegardo Seibert França.  
Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramentos) - Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias.

1. Plantas Medicinais. 2. Insulina Vegetal. 3. Alterações Cromossômicas. 4. DPPH. 5. FT-ICR MS. I. Matsumoto, Silvia Tamie. II. França, Hildegardo Seibert. III. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Agrárias e Engenharias. IV. Título.

**CDU: 631.523**

---

*Em especial, a minha mãe Gilceia, meu pai José Rodrigues, minha namorada Daiana Sangi e aos meus avós Gilda e Geracino, pelo amor, dedicação, apoio confiança. Dedico!*

*“ Faça o teu melhor, na condição que  
você tem, enquanto você não tem  
condições melhores, para fazer melhor  
ainda! ”*

*(Mario Sergio Cortella)*

## AGRADECIMENTOS

À Deus por sempre estar ao meu lado, me protegendo, dando conforto e coragem em cada momento difícil.

À Universidade Federal do Espírito Santo e ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento pela oportunidade de aprendizado e realização da minha pesquisa. Serei eternamente grato a essa instituição pela minha formação profissional.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES.

À Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo – FAPES, pela bolsa.

À minha mãe Gilceia, por sempre acreditar em mim, em momentos que nem eu acreditava e meu pai José que em nenhum momento deixo de confiar e acreditar nos meus sonhos, minha eterna gratidão. Essa vitória é nossa!

Aos meus avós Geracino e Gilda que sempre foram alicerces na minha vida, sempre estando presentes prontos para acolher e abraçar nos momentos em que mais precisei.

À minha família, Daiana e Ema, que durante esses dois anos tiveram dia e noite ao meu lado, me apoiando e fazendo a caminhada ser mais fácil, saiba que amo essa nossa família diferente.

Ao meu irmão Ângelo, que logo no início quando eu não sabia se era capaz, soltou a seguinte frase; “Vaca não dá leite, temos que ir tirar. Por isso vai atrás!” Aos meus sobrinhos Maria Vitória e Matteo por sempre me motivarem a ser um profissional melhor, vocês são meus amores.

À tia Tânia, tio Romildo e as meninas por sempre estarem a disposição para me socorrerem nas idas a Vitória. Meu muito obrigado.

Aos colegas do Grupo de Estudo em Mutagênese, vulgo GEMUT, Fran, Júnior, Anyssa, Natália, Nataly, Kristian e Lívia.

lasmini por todo apoio, incentivo e parceria desenvolvida nesse tempo.

Ao Enzo, madrinha Fabiene e o Lau por todo acolhimento em Vitória, sempre tendo um café e um panetone.

À Suiany, pela parceria nos testes antioxidantes.

Ao laboratório de Citogenética, Mutagênese e Cultura de Tecidos Vegetais, em nome da professora Milene, por ter aberto as portas do laboratório e me

acolhido, permitindo que o experimento pudesse ter acontecido em meio ao caos que foi/está sendo a pandemia, os meus mais sinceros agradecimentos.

À Soninha, Thammyres, Thayllon pela ajuda, incentivo e os risos em bancada durante os experimentos, com certeza tornou o processo mais alegre e prazeroso.

À minha orientadora professora Silvia Tamie Matsumoto, por ter me acolhido e ensinado tudo com uma maior paciência e tranquilidade, obrigado pelo voto de confiança e obrigado por ter trabalhado com a senhora.

Ao meu coorientador professor Hildegardo Seibert França, por também ter topado essa parceria, e todo o ensinamento na parte química que não é fácil.

Enfim, agradeço a todos que de alguma forma contribuiu para o desenvolvimento deste trabalho.



## RESUMO

A *Cissus verticillata* (L.) é uma espécie vegetal muito utilizada pela população no tratamento de doenças. O uso se dá pelas suas atividades biológicas, como sua capacidade antiglicemiante, anticonvulsiva, antirreumática entre outras. Tendo em vista sua importância na medicina popular, faz-se necessária a avaliação da planta com uma abordagem toxicogenética, pois, mesmo tendo características benéficas para saúde, pode apresentar algum efeito nocivo. Este trabalho teve como objetivo avaliar as atividades toxicogênica, antioxidante e a caracterização química dos extratos aquoso e etanólico de *Cissus verticillata*, utilizando como organismo teste o *Allium cepa* (L.). Para isso, os dois tipos de extratos foram caracterizados e utilizados como tratamentos nos ensaios de fitotoxicidade, citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade, nas concentrações de 100, 75, 50, 25 e 12,5 (% v/v). A caracterização química dos extratos revelou a presença de classes de metabolitos como flavonoides, açúcares e taninos. Foi observado a redução da germinação das sementes de *A. cepa* nas concentrações 100, 75, 50, 25 (% v/v) do extrato etanólico e no crescimento radicular em todas as concentrações, exceto nas concentrações 25 e 12,5 (% v/v) do extrato aquoso. O ciclo celular das células meristemáticas das raízes de *A. cepa* também foi afetado pela redução do Índice Mitótico, nas concentrações 75, 50, 25 (% v/v) do extrato etanólico e na concentração 100 (% v/v) do extrato aquoso. Na análise da atividade genotóxica e mutagênica não foi encontrada nenhuma alteração significativa. Utilizando o método DPPH, foi possível identificar a capacidade antioxidante dos extratos, onde o extrato etanólico apresentou uma melhor atividade quando comparado com o extrato aquoso, tendo um  $EC_{50}$  de 364,65  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  e 982,51  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  respectivamente. Os dados obtidos neste estudo indicam que os extratos de *C. verticillata*, mesmo causando alteração no índice mitótico não causou alterações na molécula de DNA das células meristemáticas de *Allium cepa*, esse fato pode estar relacionado com a presença da atividade antioxidante dos extratos devido a presença dos grupos fenólicos como flavonoides e taninos. Esses dados colaboram para um uso mais seguro da planta pela população nas concentrações testadas.

**Palavras-chaves:** Plantas Medicinais. Insulina vegetal. Alterações cromossômicas. DPPH. FT-ICR MS.

## ABSTRACT

*Cissus verticillata* Nicolson & C. E. Jarvis is a plant species widely used by the population in the treatment of diseases. Its use is due to its biological activities, such as its antiglycemic, anticonvulsant, antirheumatic, among others. In view of its importance in folk medicine, it is necessary to evaluate the plant with a toxicogenetic approach, as, even with beneficial characteristics for health, it may have some harmful effect. This work aimed to evaluate the toxicogenetic and antioxidant activities and chemical characterization of aqueous and ethanolic extracts of *Cissus verticillata*, using *Allium cepa* (L.) as test organism. For this, the two types of extracts were characterized and used as treatments in the phytotoxicity, cytotoxicity, genotoxicity and mutagenicity assays, at concentrations of 100, 75, 50, 25 and 12.5 (% v/v). The chemical characterization of the extracts revealed the presence of classes of metabolites such as flavonoids, sugars and tannins. A reduction in *A. cepa* seed germination was observed at concentrations 100, 75, 50, 25 (% v/v) of the ethanol extract and root growth at all concentrations, except at concentrations 25 and 12.5 (% v /v) of the aqueous extract. The cell cycle of the meristematic cells of *A. cepa* roots was also affected by the reduction of the Mitotic Index, at the concentrations 75, 50, 25 (% v/v) of the ethanol extract and at the concentration of 100 (% v/v) of the aqueous extract. In the analysis of genotoxic and mutagenic activity, no significant alteration was found. Using the DPPH method, it was possible to identify the antioxidant capacity of the extracts, where the ethanol extract showed a better activity when compared to the aqueous extract, having an EC<sub>50</sub> of 364.65 µg.mL<sup>-1</sup> and 982.51 µg.mL<sup>-1</sup> respectively. The data obtained in this study indicate that the extracts of *C. verticillata*, even causing changes in the mitotic index did not cause changes in the DNA molecule of the meristematic cells of *Allium cepa*, this fact may be related to the presence of the antioxidant activity of the extracts due to the presence of phenolic groups such as flavonoids and tannins. These data contribute to a safer use of the plant by the population at the concentrations tested.

**Keywords:** Medicinal Plants. Vegetable insulin. Chromosomal alterations.  
DPPH. FT-ICR MS.

# SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1. Utilização de plantas medicinais	17
2.2. <i>Cissus Verticillata</i> Nicolson & C. E. Jarvis (Vitaceae)	18
2.3. Importância da avaliação da planta	21
2.4. Fitotoxicidade	22
2.5. Citotoxicidade	23
2.6. Genotoxicidade	24
2.7. Mutagenicidade	24
2.8. Atividade antioxidante pelo método de DPPH	25
3. OBJETIVOS	29
3.1. Objetivo geral	29
3.2. Objetivos específicos	29
4. MATERIAIS E MÉTODOS	30
4.1. Material vegetal	30
4.2. Obtenção dos extratos foliares	30
4.3. Rastreio fitoquímico dos extratos	30
4.4. Preparação das amostras vegetais	31
4.5. Análise fitotóxica	31
4.6. Análise citotóxica, genotóxica e mutagênica	32
4.7. Atividade antioxidante	33
4.8. Análise estatística	34
5. RESULTADOS	35
5.1. Fitotoxicidade em <i>Allium cepa</i>	35
5.2. Citotoxicidade, Genotoxicidade e Mutagenicidade pelo sistema de <i>Allium cepa</i>	37

5.3. Atividade antioxidante _____	41
5.4. Análise da composição química dos extratos de <i>Cissus verticillata</i> _____	41
6. DISCUSSÃO _____	46
7. CONCLUSÃO _____	50
8. REFERÊNCIAS _____	51

## 1. INTRODUÇÃO

As plantas medicinais são espécies silvestres ou cultivadas utilizadas na prevenção e/ou no tratamento de doenças. Pode servir de matéria prima para o desenvolvimento e produção de novos medicamentos na medicina moderna, porém são muito utilizadas em práticas populares, sendo conhecidas como medicamentos caseiros (medicina tradicional) (OMS, 2013).

O Brasil é um dos países com a maior diversidade vegetal do mundo. Daí resulta uma vasta e valiosa fonte de plantas com atividades biológicas e farmacológicas que são empregadas na medicina tradicional (SILVA, MELO, et al., 2013).

Dentro do cenário das plantas medicinais brasileiras, inclui a *Cissus verticillata*, uma planta medicinal da família Vitaceae, conhecida popularmente como Insulina Vegetal, cipó-pucá, entre outros nomes populares a depender da região do país (BARBOSA, et al., 2002; OLIVEIRA, 2006).

Diversas partes da planta, como os frutos, o caule e as folhas são utilizados popularmente na prevenção e tratamento de doenças. O uso mais tradicional da planta é nas formas de decocção e infusão das folhas, onde é utilizada no tratamento de diabetes tipo 2, isso devido a sua atividade hipoglicemiante (PAULINO, 2019). Além da atividade hipoglicemiante outras atividades já foram descritas, como as atividades anticonvulsivante, anti-inflamatória, antirreumática, antitérmica, anti-hipertensiva (PEPATO et al., 2003; LINO et al., 2008; SALGADO, 2009; OLIVEIRA et al., 2012; DROBNIK & OLIVEIRA, 2015).

Mesmo o uso das plantas medicinais trazendo benefícios para a saúde da população que faz o seu uso, efeitos prejudiciais à saúde também podem ser causados pelas plantas medicinais. As infusões de plantas, podem apresentar substâncias tóxicas, que podem vir a apresentar efeitos mutagênicos (Vicentini et al., 2001; DAMASCENO et al., 2019; RAMAR et al., 2020).

Torna-se necessário investigar e compreender melhor os possíveis danos causados por elas, principalmente as possíveis alterações genéticas que podem vir a gerar. A investigação dessas alterações já é exigida tanto por agências internacionais como a Agência Europeia de Medicamentos (EMA) e

Food and Drug Administration (FDA), como a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (ARALDI, et al., 2015).

Neste sentido, mesmo a planta apresentando diversas atividades biológicas e farmacológicas descritas, torna-se necessário investigar se a *Cissus verticillata* apresenta atividade citogenotóxica e/ou mutagênica pelo teste de *Allium cepa*. Além de descrever se a planta apresenta atividade antioxidante.



## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1. Utilização de plantas medicinais**

O uso de plantas com fins terapêuticos é uma prática popular, que vem sendo passada por gerações, sendo seu uso encorajado por diversas organizações, como a Organização Mundial da Saúde (OMS), principalmente em países em desenvolvimento. No Brasil o incentivo ao uso de plantas medicinais e fitoterápicos, vem acontecendo desde 2006, com a implantação da Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) e em seguida com a Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS) (MATTOS et al., 2018). Ao longo do tempo evidências baseadas na experimentação e repetição do conhecimento popular sobre o uso de plantas medicinais tornaram possível a inclusão dos fitoterápicos na medicina tradicional (SANTOS et al. 2011).

De acordo com OMS, as plantas medicinais são todas aquelas, silvestres ou cultivadas, que são empregadas com o intuito de prevenir, aliviar, curar e modificar algum processo fisiológico seja ele normal ou patológico (ARIAS, 1999). Já a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), considera planta medicinal toda aquela que possuir substâncias capazes de apresentar algum tipo de ação terapêutica (BRASIL, 2010).

Dados da Organização Mundial da Saúde (OMS) revelam que cerca de 80% da população faz ou já fez uso de alguma erva com o intuito de aliviar dores e sensações de mal-estar, sendo a própria OMS uma grande incentivadora do uso de plantas medicinais na atualidade (WHO, 2015; MATTOS et al., 2018).

É importante destacar que a biodiversidade brasileira é imensa, e parte considerável dela ainda é desconhecida. O Brasil é o país com maior diversidade genética vegetal, tendo catalogadas mais de 55 mil espécies, podendo chegar até 550 mil espécies e, possui uma ampla tradição no uso de plantas medicinais, vinculadas ao conhecimento popular (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006), seu uso vem sendo apontado como promissor, dada a sua credibilidade terapêutica e o baixo custo (NETO, 2020).

Em diversas regiões e comunidades distantes, localizadas no meio rural, onde não se tem acesso à medicação moderna por questões econômicas ou pela inviabilidade de acesso ao meio urbano (FILOCREÃO, et al., 2014 & VÁSQUEZ et al., 2014), o conhecimento sobre as plantas medicinais e suas aplicações terapêuticas muitas vezes são o único recurso para o tratamento e controle de doenças (MACIEL et al., 2002; LOPES et al., 2010; SILVA et al. 2011).

Torna-se necessário pesquisas que assegurem a qualidade, segurança e a eficácia de espécies vegetais (SILVA et al., 2018; LIMA & FERNANDES, 2020).

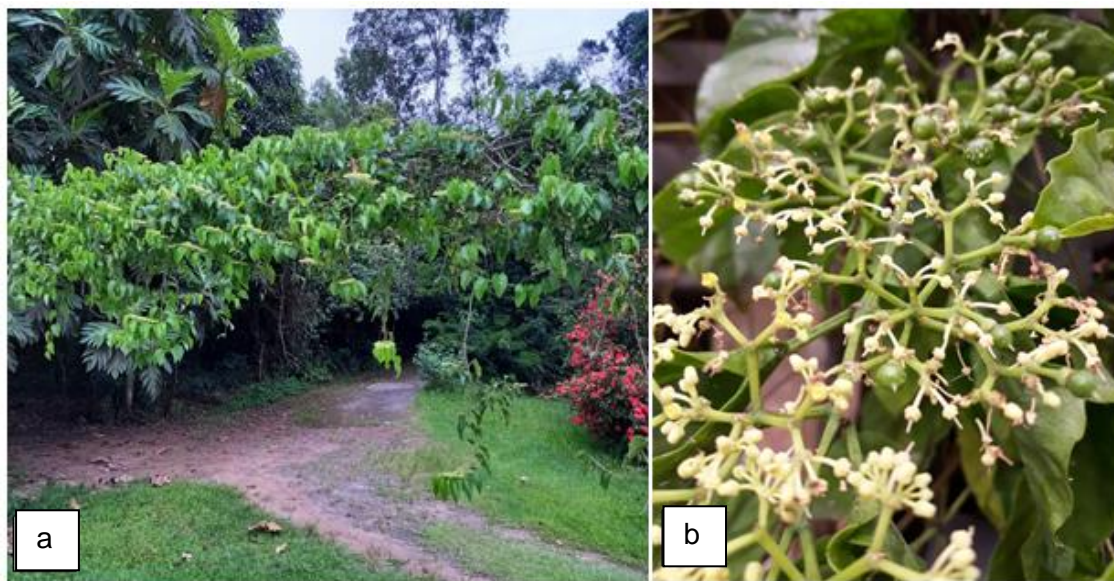
O conhecimento popular sobre o uso de plantas como forma de terapia é de grande importância para medicina, ao longo dos anos levou à descoberta de muitos agentes bioativos e uma incomparável diversidade química que se mostram eficazes no desenvolvimento de drogas modernas (JIGNA & SUMITRA 2007; COX & BALICK, 1994).

O uso de fitoterápicos vem aumentando cada vez mais, graças a cultura oriental e diversas propagandas que prometem diversos benefícios de forma segura e natural, além disso, os mesmos passaram a ter fácil acesso, sendo passíveis de serem encontrados em farmácias e lojas de produtos naturais, porém para que seu uso seja realmente seguro são necessários testes toxicológicos que permitem a seguridade (JUNIOR, et al., 2005; FIGUEIREDO, et al., 2014; NASCIMENTO et al., 2018).

## **2.2. *Cissus Verticillata* Nicolson & C. E. Jarvis (Vitaceae)**

*Cissus Verticillata* Nicolson & C. E. Jarvis (Vitaceae) (Fig. 1), conhecida popularmente por anil-trepador, cipó-pucá, uva-branca, insulina vegetal, apresenta uma vasta sinonímia, como *Cissus sicyoides* L., *Cissus canescens* Lam, *Cissus compressicaulis* Ruiz & Pav., *Cissus ovata* Lam., *Cissus smilacina* Kunth, *Cissus tamoides* Cambess., *Cissus umbrosa* Kunth, *Phoradendron verticillatum* (L.) Ducke, *Spondylantha aphylla* C. Presl, *Viscum verticillatum* L., *Vitis sicyoides* (L.) Baker (Nicolson et al, 1984; Lorenzi & Matos, 2002), é uma espécie pertencente à família Vitaceae, e do gênero *Cissus*. A família Vitaceae tem grande importância econômica, tendo em vista que algumas espécies da família, como a *Vitis sp.* gênero que pertence as uvas, que são espécies onde seus frutos são usados

como matéria prima para a produção de vinhos e outros produtos (ALEXANDRE, 2007). Além da importância comercial das espécies do gênero *Vitis*, outros gêneros pertencentes à família Vitaceae tem relevância, que é o caso do gênero *Cissus*, sendo o maior gênero da família, tendo aproximadamente 350 espécies (LOMBARDI, 2000). As espécies desse gênero são amplamente utilizadas na ornamentação e no tratamento e prevenção de doenças pela população (RIBEIRO et al., 1999; FERNANDES & BANU, 2012)



**Figura 1.** Espécie *Cissus verticillata*. a: Aspecto da espécie em campo. b: Detalhes dos frutos e das folhas.

A *Cissus verticillata* é uma das espécies utilizadas pela população na prevenção e tratamento de doenças. Ela é amplamente empregada no tratamento de diabetes tipo 2, por apresentar ação hipoglicemiante, onde seu uso é feito na forma de chá das folhas, utilizando o método de decocção ou infusão (PAULINO, 2019). Além da atividade antiglicemiante, foi descrito que a planta possui efeitos anticonvulsivante, anti-inflamatória, antirreumática, antitérmica, anti-hipertensivo (PEPATO et al., 2003; LINO et al., 2008; SALGADO, 2009; OLIVEIRA et al., 2012; DROBNIK & OLIVEIRA, 2015), Garcia e colaboradores (1999) também descreveram a atividade antigripal e combate de infecções respiratórias.

As atividades citadas acima são devido à presença de metabólitos secundários, como flavonoides, polissacarídeos, compostos fenólicos entre outros. No caso da *Cissus verticillata*, Viana e colaboradores (2004) atribuíram a redução de glicose em experimentos com ratos aos polissacarídeos, enquanto os

flavonoides foram responsáveis pela redução de triglicerídeos e de transaminases, a presença de alcaloides e taninos é especificamente responsáveis pela atividade antinociceptiva (MR VANU, PALANIVELU, PANCHANATHAM, 2006; FI UCHE, JS APRIOKU, 2008).

A distribuição desses metabólitos se dá ao longo de toda a planta, com destaque para as partes aéreas. A tabela 1 apresenta os metabólitos isolados e descritos presentes na planta.

Tabela 1. Metabólitos isolados da *Cissus verticillata*.

<b>Nome do composto</b>	<b>Classe</b>	<b>Referência</b>
Sabandina	Cumarina	BELTRAME,
Diosgenina	Esteróide	TOLEDO et al., 1983; QUÍLEZ et al., 2004.
Hecogenina	Esteróide	TOLEDO et al., 1983; QUÍLEZ et al., 2004.
B-Sitosterol	Esteróide	BELTRAME et al., 2002; GUPTA e VERMA, 1991; SAIFAH et al., 1987.
Resveratrol (E)-3,4',5-trihidroxi-estilbeno	Estilbeno-derivado	AHMED et al., 2000; QUÍLEZ et al, 2004.
Canferol	Flavonoide	BARBOSA et al, 2002.
Luteonina	Flavonoide	BARBOSA et al, 2002.
Luteonina-3'-sulfato	Flavonoide	BARBOSA et al, 2002.
5,6,7,8-tetrahidroxi-cumarina-5- $\beta$ -xilopiranosídeo	Heterosídeo cumarínico	BELTRAME et al, 2002.
3- $\beta$ -O- $\beta$ -D-glicopiranosil-sitosterol	Heterosídeo esteroidal	BELTRAME et al, 2002.

Canferol 3- $\alpha$ -raminosídeo	Heterosídeo flavonoídico	BELTRAME et al, 2001.
Quercetina 3- $\alpha$ -raminosídeo	Heterosídeo flavonoídico	BELTRAME et al, 2001.
Delfinidin-3-rutinosídeo	Heterosídeo flavonoídico	TOLEDO et al, 1983.
Cianidin-3-raminosil-arabinose	Heterosídeo flavonoídico	TOLEDO et al, 1983.
Delfinidin-3-ramnosídeo	Heterosídeo flavonoídico	TOLEDO et al, 1983.

Tabela modificada de ALEXANDRE, F. S. O. (2007).

A maioria dos estudos referentes a Tabela 1 estão relacionados com as atividades dos extratos, sendo extratos brutos ou de decoctos de partes da planta, tendo em vista que é nessa forma que a população faz uso.

### 2.3. Importância da avaliação da planta

Devido a difusão e conseqüentemente o aumento da demanda de plantas medicinais, o setor farmacêutico vem desenvolvendo fármacos à base de extratos vegetais, onde são registrados e atende diferentes especialidades medicinais (MELO et al., 2007; ZENI, 2017).

Entretanto, a grande maioria das plantas que são utilizadas como medicinais, ainda não possuem comprovação técnico-científica que garanta a sua eficácia, segurança e qualidade, para isso, é necessário a realização de estudos farmacológicos e avaliação das possíveis atividades biológicas, além de testes que revelem os efeitos tóxicos (BAGATTINI, SILVA & TEDESCO, 2009; FARIAS, 2001).

Trabalhos já vem sendo realizados com o intuito de conhecer as atividades biológicas e os possíveis efeitos tóxicos das plantas medicinais. Silva, et al. (2020) analisaram o potencial citogenotóxico do extrato aquoso de *Laurus nobilis* (L.) onde foi relatado a ausência do potencial citogenotóxico nas

concentrações testadas. Pereira, et al (2020) também analisou os efeitos dos extratos foliares de *Poincianella bracteosa* (Tul.) em *Allium cepa*, onde também não encontraram efeito citogenotóxico e descreveram ainda o efeito protetor do extrato nas células.

Portanto, o estudo dos efeitos biológicos das plantas medicinais se torna extremamente importante, tendo em vista que a falta de informação e o uso indiscriminado dessas plantas por meio de infusões e chás, podem vir a acarretar danos à saúde, tendo em vista que substâncias presentes nessas infusões e chás podem ser tóxicas, mutagênicas, carcinogênicas, quando consumidas sem restrições e de forma indiscriminada (VERRI et al., 2017).

Testes que avaliam os possíveis efeitos citogenotóxicos e mutagênico de diferentes extratos vegetais, usando como bioindicador o *Allium cepa* mostra alta sensibilidade e boa correlação com outros sistemas biológicos, sendo de grande relevância, tendo em vista que mesmo se tratando de extratos vegetais, os mesmos podem apresentar na sua composição química compostos que podem ser nocivos à saúde (GUIDOTTI, et al., 2014; MOURA & MOURA, 2017; SILVA, 2020).

#### **2.4. Fitotoxicidade**

As plantas interagem de diversas formas, um meio de interação é através dos metabólitos. Os metabólitos presentes em uma planta, podem apresentar a capacidade de inibir ou até mesmo de estimular o desenvolvimento de outras plantas (INDERJIT, 2005; CARVALHO et al., 2016). Os metabólitos secundários especializados, são espalhados por diversas formas, seja por meio da lixiviação das partes aéreas, exsudação radicular, volatilização (RICE, 1984; WEIR et al., 2004) ou até mesmo por resíduos de plantas em decomposição, podendo afetar o metabolismo, afetando a fotossíntese, absorção de nutrientes, a divisão celular e conseqüentemente alterando a morfologia de outras plantas (INDERJIT E DUKE, 2003; FIORENZA et al., 2016). Portanto, algumas substâncias do metabolismo secundário das plantas apresentam potencial fitotóxico, ou seja, ação tóxica em relação a outra planta.

A fitotoxicidade de uma substância é avaliada a partir de alterações no percentual de germinação de sementes, no crescimento radicular e aéreo e no índice de velocidade de germinação. A avaliação da fitotoxicidade de uma substância permite determinar a capacidade de inibição da germinação, de desenvolvimento da planta e do crescimento das raízes (TRAUTMANN, N. M., KRASNY, M. E., 1998; ASLAM et al., 2007; ARAGÃO, 2017; JORGE, 2018).

Portanto o potencial alelopático e a fitotoxicidade de substâncias dos metabólitos secundários das plantas desperta grande interesse nos estudos para o desenvolvimento de produtos que podem vir a ser utilizados como bioherbicidas, sendo eficientes no controle de ervas daninhas no ambiente agrícola e podendo ser menos agressivo ao meio ambiente em comparação aos herbicidas tradicionais (MACIEL et al., 2017).

## **2.5. Citotoxicidade**

Os agentes citotóxicos são todos os que apresentam capacidade de causar algum dano à célula, seja subletal ou letal. Esses agentes atuam inibindo as sínteses na célula - como a síntese de proteína, de ácidos nucleicos -, afetam as vias de produção de energia celular e até mesmo incidem na integridade das membranas plasmáticas - membrana celular e membrana intracelular - (ISTIFLI; HÜSUNET; ILA, 2019). Um teste importante para avaliar as propriedades nocivas de uma substância em relação às células é o índice mitótico (IM), que se baseia no número de células em divisão (PORRAS TORRES et al., 2013).

A avaliação da citotoxicidade é de extrema importância na área da saúde, onde caracterizam-se substâncias que podem ser utilizadas na área médica. Vários relatos revelam que plantas e seus produtos que são utilizados na medicina apresenta atividade tóxica para as estruturas das células (MADHU, SREEJA & PRIYA, 2020). Exemplo dessas plantas que TRAZEM efeitos nocivos para as células, são os extratos das folhas e caules de *Alophylus edulis*, planta empregada na fisioterapia popular que mostrou atividade citotóxica (YAJIA, et al., 1999). Os testes visam avaliar possíveis efeitos danosos às células, tendo em vista que a citotoxicidade está

diretamente relacionada à atividade de alguma substância em promover algum tipo de alteração metabólica celular (ARAGÃO, 2017; PONTES, 2018).

## **2.6. Genotoxicidade**

A genotoxicidade leva em consideração a capacidade da substância em causar alguma alteração nuclear (AN) durante a divisão celular, aparelho celular e nas topoisomerasas, que desempenham papel importante no processo de replicação e empacotamento do DNA (SLOCZKA et al., 2014; IQBAL et al., 2019). Esses agentes causam alterações no material genético, por intermédio de interações (KRÜGER, 2009; FIGUEIRA, 2017). Entretanto, as células apresentam mecanismo de reparo do DNA o qual é responsável por identificar, controlar e reparar as alterações sofridas pelo material genético. O sistema de reparo pode funcionar ou não. Caso essas modificações sofridas pelo DNA sejam reparadas, elas são consideradas alterações genotóxicas, ou seja, não são permanentes (FAGUNDES, 2012; TERRAZAS, 2013; CARVALHO, 2014).

Portanto, a genotoxicidade permite avaliar possíveis alterações do material genético exposto a algum agente genotóxico, essa avaliação se dá por alterações nucleares, como núcleos lobados – resultado de anáfases multipolares com presença de pontes cromossômicas; Broto nuclear – Sua origem está relacionada com a formação precoce do envoltório nuclear, onde não ocorreu a migração completa dos cromossomos para os polos. Essas alterações nucleares levam ao processo de morte celular (LEME et al., 2008; LEME e MARIN-MORALES, 2008; IQBAL et al., 2019).

Caso o sistema de reparo não consiga desempenhar sua função corretamente reparando as alterações sofridas no DNA, esses efeitos são fixados e transmitidos para células filhas, esse agente genotóxico passa então a apresentar características mutagênicas (DEARFIELD et al., 2002).

## **2.7. Mutagenicidade**



A mutagenicidade é a capacidade de induzir ou aumentar as frequências de mutações por um agente. Portanto, a mutagenicidade avalia os danos permanentes no conteúdo ou na estrutura do material genético. As alterações estruturais induzidas por agentes mutagênicos são alterações no número de cromossomos (euploidia, poliploidia, aneuploidia), além de mudanças grosseiras nas estruturas dos cromossomos - alterações cromossômicas - (COSTA et al., 2014; FIGUEIRA, 2017). A maioria dos testes realizados para a detecção de substâncias mutagênicas baseia-se na análise de alterações cromossômicas estruturais, trocas de cromátides irmãs e formação de micronúcleos (PEÑA, 1996).

Uma das formas de avaliar a mutagenicidade é por meio do teste de micronúcleo (MN), é um teste bem simples comparado ao teste de alterações nucleares, as anormalidades observadas no teste de MN são a presença de corpúsculos de cromatina parecidos com um pequeno núcleo, ficando separados do núcleo principal da célula e o tamanho reduzido do núcleo das células filhas em comparação a célula mãe. (IQBAL et al., 2019; MORAIS, 2019).

Os MN's são originados de duas formas, fragmentação de cromossomos acêntricos (não apresentam centrômeros), oriundo de ação clastogênica, ou formação de MN com cromossomos inteiros, que devido a algum erro no centrômero ou na citocinese se atrasaram durante a migração para os polos durante a anáfase, essa segunda forma se dá por ação aneugênica - perda cromossômica (COSTA et al., 2014; FIGUEIRA, 2017).

Outras técnicas podem ser empregadas para analisar a mutagenicidade de uma substância, como por exemplo, o uso de bandeamento cromossômico, hibridização *in situ*, técnicas que auxiliam na detecção de agentes mutagênicos (OLIVEIRA, 2016; LEME e MARIN-MORALES, 2009).

## **2.8. Atividade antioxidante pelo método de DPPH**

Os processos metabólicos e fisiológicos das células, sejam em células animais ou vegetais que possuem respiração aeróbica, produzem radicais livres, moléculas ou fragmentos de moléculas que em sua constituição química

apresentam elétrons livres não pareados em sua órbita externa, que por sua vez são quimicamente instáveis e altamente reativos (CANTRELE, 2005; GERVÁSIO, 2019). Esses elétrons não pareados, quando presentes nas moléculas alteram sua reatividade, sendo mais reativos que aquelas moléculas não-radicalares. Sendo assim, eles são instáveis e altamente reativos (FERREIRA & MATSUBARA, 1997).

As Espécies Reativas de Oxigênio (EROS), estão entre os radicais livres mais conhecidos, as EROS são intermediárias da redução parcial do oxigênio (FERREIRA, 2009; CANTRELE, 2005). Quando um elétron é transferido para o  $O_2$  é produzido o primeiro intermediário reativo, que é o radical superóxido ( $O_2\bullet$ ), que sofre uma alteração, transformando em peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), em seguida uma das moléculas de  $O_2$  é quebrada formando uma hidroxila ( $\bullet OH$ ) (FERREIRA; MATSUBARA, 1997; SAND, 2005).

De todos os intermediários produzidos pela formação de EROS, a hidroxila é o radical considerado mais reativo e prejudicial, pois passa a ser um precursor para a formação de outras espécies reativas tóxicas, que estão relacionadas com a peroxidação de lipídeos, alterações no material genético, como a troca de bases e quebra da fita de DNA, entre outros danos (CORRADI DA SILVA et al., 2008; SAND, 2005; VASCONCELOS et al., 2007).

Além dos EROS, as Espécies Reativas de Nitrogênio (ERNs) são um grupo importante de moléculas que provoca o estresse oxidativo. A principal ERN é o óxido nítrico (NO), sendo formadas outras ERN a partir dele. O NO é um potente iniciador de peroxidação lipídica, porém só ocorre quando entra em contato com  $O_2$  (CORRADI DA SILVA et al., 2008; SAND, 2005; VASCONCELOS et al., 2007).

Para o bom funcionamento dos sistemas biológicos, os antioxidantes, reações pró-oxidantes e oxidantes devem estar em equilíbrio. Quando um desses fatores está em desequilíbrio temos o estresse oxidativo (VASCONCELOS, et al., 2007).

O estresse oxidativo gera um mau funcionamento dos sistemas biológicos. Nos humanos essa condição está relacionada com o surgimento ou o agravamento de algumas doenças, como nefropatias, alguns tipos de câncer e diabetes (RODRIGO & RIVERA, 2002; WU et al., 2005; LAPIDOT et al., 2002).

Nas plantas essa condição é responsável por alguns distúrbios fotossintéticos e pelo apodrecimento dos frutos (DELARMELENA, 2017; CANTRELE, 2005).

A produção e presença desses radicais livres, que leva ao estresse oxidativo, levou ao desenvolvimento de mecanismos de defesas contra esse fator, limitando os níveis de radicais livres intracelular e impedindo os danos causados por eles. Os responsáveis por essa defesa são os antioxidantes (BIANCHI; ANTUNES, 1999).

Os agentes antioxidantes podem ser definidos como qualquer substância que presente em baixas concentrações, quando comparado ao substrato oxidável, tem a capacidade de atrasar ou inibir a oxidação desse substrato. Os antioxidantes podem atuar de duas maneiras, retirando os potenciais agentes oxidantes ou reparando os danos causados por esses agentes. Entre as responsáveis por neutralizar os agentes oxidantes temos a: glutathiona reduzida (GSH), superóxido-dismutase (SOD), catalase, glutathiona-peroxidase (GSH-Px) e a Vitamina E. Quando os danos já foram causados, o reparo pode ser feito por compostos como a, glutathiona-redutase (GSH-Rd), a glutathiona-peroxidase (GSH-Px) e o ácido ascórbico (MORAIS et al., 2013).

Sabendo da importância e relevância desses agentes antioxidantes, a busca por novas moléculas é ininterrupta, pois essa atividade está diretamente ligada com outras atividades biológicas, tendo aplicações na saúde humana e na saúde vegetal (MORAIS et al., 2013; GIESE, 2015).

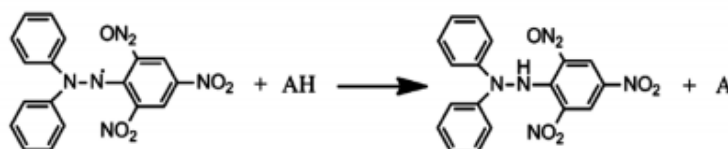
Como os antioxidantes podem atuar de diferentes formas, a identificação dessa atividade pode ser feita de diversas maneiras. Os mecanismos mais utilizados para a identificação se uma molécula apresenta atividade antioxidante é a de sequestro de radicais livres e da capacidade de redução do ferro. Entre os testes utilizados para avaliar a atividade antioxidante temos, ABTS, DPPH, FRAP e Quelante do Fe<sup>2+</sup>. Os dois primeiros testes avaliam a capacidade de sequestro dos radicais livres, quando as duas últimas a redução do ferro (SIRIVIBULKOVIT; NOUANTHAVONG; SAMEENOI, 2018; SOUZA, 2013).

Vários testes podem ser empregados nas análises de compostos simples, como é o caso dos extratos vegetais, porém o teste de DPPH apresenta uma certa vantagem, pois permite uma análise mais refinada quando

os compostos estudados são mais solúveis em solventes orgânicos, além da possibilidade da compra já pronta do radical livre (SUCUPIRA, 2012).

O método de DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazil) é capaz de identificar se um composto é capaz de sequestrar radicais livres. O radical livre DPPH apresenta coloração violeta, e ao ser neutralizado se transforma em difenil-picril-hidrazina (DPPH-H) perdendo sua coloração violeta. Essa mudança na coloração aponta quando o radical DPPH foi reduzido, permitindo assim, monitorar a atividade antioxidante de um composto (BORGES et al., 2011; SUCUPIRA et al., 2012).

Além da mudança visual, para monitorar a atividade antioxidante, é observada a redução da absorbância observada, onde o DPPH na forma não reduzida apresenta um comprimento de onda máxima absorvido de 516nm, quando um composto apresenta atividade antioxidante essa absorbância é reduzida, sendo possível detectar em Elisa (BORGES, et al, 2011).



**Figura 2.** Reação entre um antioxidante e DPPH. O AH representa uma molécula doadora (antioxidante), e o A é o composto final, não radicalar.

FONTE: (SIRIVIBULKOVIT et al., 2018).

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo geral**

O presente trabalho tem como objetivo investigar as atividades toxicogénicas, antioxidante e caracterizar a composição química dos extratos aquoso e etanólico das folhas de *Cissus verticillata*.

#### **3.2. Objetivos específicos**

- Verificar as atividades fitotóxica, citotóxica, genotóxica e mutagênica dos extratos aquoso e etanólico das folhas de *Cissus verticillata* em *Allium cepa* L.;
- Avaliar a atividade antioxidante dos extratos aquoso e etanólico das folhas de *Cissus verticillata* por meio do teste colométrico *in vitro*: DPPH.
- Identificar os compostos químicos presentes nos extratos aquoso e etanólico das folhas de *C. verticillata* por espectrometria de massa.

## **4. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1. Material vegetal**

Folhas jovens de *Cissus verticillata* (Fig. 1) foram coletadas no mês de dezembro de 2020, no período da manhã, na região de Nova Almeida, município de Serra, Espírito Santo, Brasil (20°06'60''S, 40°18'52''W), onde predomina o clima tropical, com a maior taxa de pluviosidade no verão e clima seco no inverno. Após a coleta, o material vegetal foi identificado e catalogado no Herbário VIES da Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória com o número VIES 50100.

Os ensaios biológicos foram realizados com sementes de *Allium cepa* (cultivar comercial Baia Periforme, Isla sementes, Lote 121953).

### **4.2. Obtenção dos extratos foliares**

O extrato aquoso foi preparado pelo método de infusão utilizando 30g de folhas frescas, trituradas colocadas em 300 mL de água destilada aquecida a 100°C. Após descanso de 10 minutos, o extrato foi filtrado e realizada a diluição para obtenção das concentrações. Para a obtenção do extrato etanólico das amostras de folhas de *C. verticilla* foram pesadas 30 gramas do material vegetal fresco triturado, adicionados 300 mL de álcool etílico 70%, deixado durante 72 horas, misturando no shaker, na ausência de luminosidade, com rotação de 100 rpm. Após o período de agitação, a solução foi filtrada e concentrada à rotaevaporação, no banho maria a 80°C, rotação de 80 rpm, até completa evaporação do etanol.

### **4.3. Rastreo fitoquímico dos extratos**

A triagem fitoquímica para determinar os principais compostos do metabolismo secundário presentes nos extratos aquoso e etanólico das folhas de *Cissus verticillata* foi feita utilizando o método de Espectrometria de massa de íon ciclotrônico com Transformada de Fourier (FT-ICR MS). As amostras foram solubilizadas em metanol na concentração de 1mg/mL e inseridas no

equipamento (Solarix modelo 9.4T, Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha) com fonte de eletrospray no modo negativo com fluxo de 5 $\mu$ L/min e ajustado para operar numa variação de m/z de 150 a 1500. A fonte de eletrospray foi condicionada para pressão de nebulização do gás de 1.0 bar, voltagem do capilar de 3.8kV e capilar de transferência na temperatura de 200°C. Os espectros de fragmentação de MS-MS foram obtidos em um analisador quadrupolo acoplado ao FT-ICR MS com 1s de tempo de acúmulo e energia de colisão variando de 25 a 45%. Os espectros de massas foram analisados pelo software Data Analysis (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha). Para a identificação dos compostos propostos foram utilizados, o íon gerado, fórmula molecular, equivalente de ligações duplas e dados da literatura de substâncias na espécie ou gênero e comparados com os dados da literatura no Chempider e Basemol.

#### **4.4. Preparação das amostras vegetais**

Para realização dos ensaios biológicos, os extratos aquoso e etanólico das folhas de *Cissus verticillata* foram diluídos em água destilada e testados nas concentrações 100, 75, 50, 25 e 12,5 (% v/v). O herbicida glifosato (1mL/L) e o metanossulfonato de metila (MMS) (0,004 M) foram utilizados como controle positivo, além da água destilada usada como controle negativo. Cada repetição correspondeu a uma placa de Petri (9 cm de diâmetro) contendo 25 sementes. As sementes de *A. cepa* foram dispostas sobre papel filtro e em seguida umedecidas com 2 mL de cada extrato. As placas foram envoltas com plástico filme e incubadas em câmara de germinação (BOD) à 24 $\pm$ 2°C durante todo período experimental.

#### **4.5. Análise fitotóxica**

Para a análise fitotóxica o número de sementes germinadas foi avaliado de 12 às 96h, com 12h de intervalo. Ao final desse período o índice de velocidade de germinação (IVG) foi calculado usando a seguinte fórmula:

$$(N_1) \times 1 + (N_1+N_2) \times \frac{1}{2} + (N_3+N_2) \times \frac{1}{3} \dots (N_y-(N_{y-1})) \times \frac{1}{y}$$

N<sub>y</sub>= número de sementes germinadas em um dado período;

Y= número total de intervalos de tempo.

A porcentagem de germinação e o crescimento radicular foram obtidas às 96h de exposição aos tratamentos. Todas as medições foram realizadas com auxílio de um paquímetro digital.

#### **4.6. Análise citotóxica, genotóxica e mutagênica**

As análises citotóxicas, genotóxicas e mutagênicas foram realizadas em raízes providas do teste de germinação, no qual as raízes foram submetidas com as diferentes concentrações dos extratos e controles durante 96h, 10 raízes foram fixadas em solução Carnoy 3:1 (etanol: ácido acético) e armazenadas a -18°C em freezer. Foi realizado duas trocas do fixador, uma após 10 minutos e a segunda após 24 horas.

Passada a etapa de fixação, as raízes foram lavadas 3 vezes em água destilada por um tempo de 10 minutos, em seguida foram hidrolisadas em HCl 5M por 18 minutos em temperatura ambiente e lavadas em água destilada novamente. Lâminas com os meristemas foram preparadas pela técnica de esmagamento e coradas com orceína acética 2%. Para a preparação das lâminas permanentes, as lamínulas foram destacadas pelo congelamento em nitrogênio líquido e posteriormente vedadas com verniz vitral. Foram analisadas cinco lâminas para cada tratamento, totalizando 5000 células por tratamento.

A avaliação da citotoxicidade foi feita de acordo com o índice mitótico, cujo somatório do número de células em cada fase da divisão celular foi dividido pelo número total de células observadas e multiplicada por cem. O possível efeito genotóxico foi avaliado por meio da frequência de alterações cromossômicas (AC), o somatório de cada uma das alterações foi dividido pelo número total de células observadas. A mutagenicidade foi analisada de acordo com a frequência de células com micronúcleo (MN), quantificadas por meio da



divisão de células micronucleadas pelo número total de células observadas, multiplicado por cem a fim de obter a porcentagem.

#### **4.7. Atividade antioxidante**

Para avaliar a atividade antioxidante dos extratos aquoso e etanólico de *C. verticillata* foi utilizado o teste colorimétrico DPPH, seguindo a metodologia descrita por Rufino et al., (2007) e Re et al., (1999) com modificações.

Esse método permite avaliar a atividade antioxidante de um composto por meio do sequestro do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidraliza (DPPH).

Para a realização do teste, inicialmente foram preparadas soluções de DPPH a 0,3mM, e dos extratos aquoso e etanólico de *C. verticillata* na concentração de 1mg.ml<sup>-1</sup>, ambos em álcool etílico. Em sequência essas soluções foram utilizadas para preparar a diluição seriada, sendo a primeira de 1mL, onde era retirada dessa 500µL e passado para o tubo seguinte onde eram adicionados mais 500µL do solvente, repetindo esse processo sete vezes.

Os padrões utilizados para efeito de comparação foram o Ácido ascórbico e o Trolox, os padrões foram feitos na concentração de 1mg/mL, sendo preparado em álcool etílico. A partir da concentração inicial foram preparadas diluições seriadas em microtubos de 2mL. No primeiro tubo foi adicionado 2mL de solução na concentração de 1mg.mL<sup>-1</sup> e nos tubos seguintes 1mL de álcool etílico. Em seguida, foi retirado 1mL do primeiro tubo e acrescentado ao segundo, que foi homogeneizado. Esse passo foi repetido do segundo tubo para o terceiro e assim, sucessivamente, até alcançarmos a menor concentração utilizada, que foi de 7, 81mg.mL<sup>-1</sup>.

Para a montagem da placa e análise dos resultados, foram adicionados 100µL de cada concentração dos extratos e dos padrões em seguida adicionados a eles 200µL da solução de DPPH. Como branco foi utilizado 300µL de álcool etílico e como controle 100µL de álcool etílico+200µL da solução de DPPH.

A leitura da placa foi feita em aparelho de Elisa a absorvância de 740 nm. Para a análise dos resultados foi feito o cálculo do EC<sub>50</sub> que mostra a

concentração necessária de amostra para neutralizar 50% do radical. O cálculo de EC<sub>50</sub> foi feito utilizando a seguinte fórmula:

$$EC_{50} = \frac{(Absorbância\ do\ controle - Absorbância\ da\ amostra)}{Absorbância\ do\ controle} \times 100$$

#### **4.8. Análise estatística**

O delineamento experimental dos ensaios vegetais foi inteiramente casualizado (DIC), com 4 repetições para cada tratamento. Os dados dos testes fitotóxicos e citogenotóxicos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e os valores médios ao teste de Dunnett a  $p \leq 0,05$ . Para o teste de atividade antioxidante foi realizado uma regressão, para calcular o valor de EC<sub>50</sub>. Toda análise estatística foi realizada por meio do Programa R, versão 4.0.3 (R, 2021).

## 5. RESULTADOS

### 5.1. Fitotoxicidade dos extratos foliares de *Cissus verticillata* em *Allium cepa*

Utilizando a planta *Allium cepa* como modelo, foram avaliadas a fitotoxicidade dos extratos aquoso e etanólico usando como variáveis a porcentagem de germinação, o índice de velocidade de germinação (IVG) e o crescimento radicular (Tabela 2).

Tabela 2. Parâmetros macroscópicos avaliados em sementes de *Allium cepa* tratada com diferentes concentrações do extrato aquoso e extrato etanólico das folhas de *Cissus verticillata*.

<b>Tratamentos</b>	<b>(% v/v)</b>	<b>G (%)</b>	<b>IVG</b>	<b>CR (mm)</b>
<b>Extrato Etanólico</b>	100	47±5.20 *	1.7720±0.28 *	2.0425±0.41 c
	75	47±5.20 c	2.0547±0.28 *	1.73±0.41 c
	50	58±5.20 c	2.5866±0.28 c	4.365±0.41 *
	25	53±5.20 c	2.7383±0.28 c	2.9925±0.41 c
	12.5	75±5.20 abc	3.9175±0.28 abc	4.04±0.41 c
<b>Extrato Aquoso</b>	100	82±5.20 abc	4.2610±0.28 abc	4.0425±0.41 c
	75	80±5.20 abc	4.2154±0.28 abc	4.6025±0.41 *
	50	84±5.20 abc	4.4404±0.28 abc	4.7175±0.41 *
	25	82±5.20 ab	4.3377±0.28 abc	4.9925±0.41 a
	12.5	83±5.20 abc	4.5380±0.28 ab	5.3625±0.41 ab
<b>Água</b>	-	80±5.20 a	4.7877±0.28 a	6.2625±0.41 a
<b>MMS</b>	-	87±5.20 b	4.6526±0.28 b	6.5675±0.41 b
<b>Glifosato</b>	-	66±5.20 c	3.4702± 0.28 c	2.35±0.41 c

Médias±S.E seguidas pela letra a são estatisticamente iguais a água; médias seguidas pela letra b são estatisticamente iguais ao MMS (metanossulfonato de metila); médias seguidas pela letra c são estatisticamente iguais ao glifosato, médias seguidas por \* diferiram significativamente de todos os controles pelo teste de Dunnett (p<0,05). S.E: Erro padrão. G: Germinação. IVG: Índice de velocidade de germinação. CR: Crescimento radicular.

Ao avaliar a porcentagem de germinação foi observada uma redução significativa em todas as concentrações do extrato etanólico, redução essa de 41,25% nas concentrações 100, 75 e redução de 27,5% (50 % v/v), e 33,75% em 25 (% v/v), quando comparada ao controle negativo. A menor concentração do extrato etanólico e o extrato aquoso não apresentaram redução significativa quando comparada ao controle negativo (Tabela 2).

O índice de velocidade de germinação, sofreu inibição gradual pelas concentrações de 100, 75, 50 e 25 (% v/v) do extrato etanólico, com o IVG diminuindo de acordo com o aumento das concentrações. A concentração 100 (% v/v) do extrato etanólico diferiu significativamente de todos os controles. Já o extrato aquoso e a concentração de 12,5 (% v/v) do extrato etanólico não apresentaram diferença significativa do controle negativo no IVG (Tabela 2).

Os extratos, aquoso e etanólico interferiram no crescimento das raízes da planta modelo testada, onde apenas as concentrações 25 e 12,5 (% v/v) do extrato aquoso não suprimiram o alongamento das raízes de *A. cepa*. As concentrações 100, 75, 50, 25 e 12,5 (5 v/v) do extrato etanólico reduziram 67,33%, 72,37%, 30,30%, 52,20%, 35,5% respectivamente o comprimento das raízes, já as concentrações 100, 75, 50 (% v/v) do extrato aquoso reduziram em 35,5%, 26,5%, 24,70 respectivamente. Apenas as concentrações 25 e 12,5 (5 v/v) do extrato aquoso não apresentaram redução significativa comparada ao controle positivo (Tabela 2).

Observou-se que o extrato etanólico apresentou uma maior fitotoxicidade em relação ao extrato aquoso.

## **5.2. Citotoxicidade, Genotoxicidade e Mutagenicidade dos extratos foliares de *Cissus verticillata* pelo sistema de *Allium cepa***

Para avaliar a citotoxicidade dos extratos, levou-se em consideração o índice mitótico (IM) em células meristemáticas de *A. cepa* de acordo com os resultados da tabela 3.

Foi observada uma redução do índice mitótico nas concentrações 75, 50 e 25% do extrato etanólico e apenas na concentração 100% do extrato aquoso. A redução do IM foi de 53,84% para a concentração 75%, 48,29% e 47,54% para as concentrações 50% e 25% no extrato etanólico respectivamente, já a concentração de 100% do extrato aquoso apresentou uma redução de 40,47% em relação ao controle negativo, as demais concentrações não apresentaram alterações significativas comparado ao controle negativo.

Em relação as fases do ciclo celular, foi observado a diminuição da ocorrência de metáfases, anáfases e telófases durante a divisão celular na maioria das concentrações do extrato etanólico em relação ao controle negativo, onde a porcentagem de diminuição dessas variáveis foi respectivamente de 1,36, 1,14 e 1,72 na concentração 100% do extrato etanólico, 1,06, 0,80 e 1,18 na concentração 75%, 1,10, 1,26 e 1,62 na concentração 50% e 1,72, 1,32 e 1,64 na concentração 25%. Já no extrato aquoso foi possível observar uma diminuição da ocorrência de anáfases em relação ao controle negativo na maioria das concentrações, exceto na concentração 25% (Tabela 3).

Tabela 3. Frequência das fases do ciclo celular e IM (índice mitótico) de células meristemáticas avaliadas em *Allium cepa* tratada com diferentes concentrações de extrato aquoso e extrato etanólico das folhas de *Cissus verticillata*.

<b>Tratamentos</b>	<b>(% v/v)</b>	<b>Interfase</b>	<b>Prófase</b>	<b>Metáfase</b>	<b>Anáfase</b>	<b>Telófase</b>	<b>IM (%)</b>
<b>Extrato Etanólico</b>	100	64.82±2.74 *	8.4±0.87 *	1.36±0.51 bc	1.14±0.37 bc	1.72±0.39 bc	12.62±1.57 abc
	75	84.36±12.70 abc	4.28±0.87 abc	1.06±0.51 bc	0.80±0.37 b	1.18±0.39 bc	7.32±1.57 bc
	50	86.12±2.70 abc	4.22±0.87 abc	1.10±0.51 bc	1.26±0.37 bc	1.62±0.39 bc	8.20±1.57 bc
	25	89.50±2.70 abc	3.64±0.87 abc	1.72±0.51 bc	1.32±0.37 bc	1.64±0.39 bc	8.32±1.57 bc
	12.5	80.50±2.70 ab	3.92±0.87 ab	3.56±0.51 abc	2.46±0.37 bc	2.80±0.39 abc	12.74±1.57 abc
<b>Extrato Aquoso</b>	100	88.04±2.70 abc	2.86±0.87 abc	2.52±0.51 bc	1.80±0.37 b	2.26±0.39 abc	9.44±1.57 bc
	75	84.18±2.70 abc	3.74±0.87 abc	3.36±0.51 abc	2.98±0.3 bc	3.22±0.39 abc	13.30±1.57 abc
	50	87.77±2.70 abc	3.80±0.87 abc	1.78±0.51 bc	2.40±0.37 bc	2.44±0.39 abc	10.43±1.57 abc
	25	86.27±2.70 abc	3.40±0.87 abc	3.26±0.51 abc	3.14±0.37 abc	2.48±0.39 abc	12.31±1.57 abc
	12.5	86.94±2.70 abc	2.80±0.87 abc	3.34±0.51 abc	2.90±0.37 bc	3.16±0.39 abc	12.20±1.57 abc
<b>Água</b>	-	82.8±2.74 a	3.60±0.87 a	4.56±0.51 a	4.36±0.37 a	3.34±0.39 a	15.86±1.57 a
<b>MMS</b>	-	82.6±2.70 b	2.62±0.87 b	2.54±0.51 b	2.46±0.37 b	2.04±0.39 b	9.66±1.57 b
<b>Glifosato</b>	-	88.32±2.70 c	1.86±0.87 c	2.52±0.51 c	2.00±0.37 c	2.12±0.39 c	8.50±1.57 c

Médias±S.E seguidas pela letra a são estatisticamente iguais a água; médias seguidas pela letra b são estatisticamente iguais ao MMS (metanossulfonato de metila); médias seguidas pela letra c são estatisticamente iguais ao glifosato, médias seguidas por \* diferiram significativamente de todos os controles pelo teste de Dunnett ( $p<0,05$ ). S.E: Erro padrão. IM: Índice mitótico.

Para os danos genotóxicos foram avaliadas células com alterações cromossômicas desconsiderando as células micronucleadas. A exposição dos extratos aquoso e etanólico de *Cissus verticillata* provocou algumas alterações cromossômicas (AC) como: cromossomo perdido, C-metáfase, ponte e quebra cromossômica, no entanto as porcentagens dessas alterações não apresentaram diferença significativa em relação ao controle negativo em nenhum dos tratamentos (Tabela 4). Micronúcleos também foram observados nas células meristemáticas de *Allium cepa*, porém não apresentaram diferença significativa quando comparado com o controle negativo (Tabela 4).

Tabela 4. Alterações cromossômicas e nucleares em células meristemáticas avaliadas em *Allium cepa* tratada com diferentes concentrações de extrato aquoso e extrato etanólico das folhas de *Cissus verticillata*.

<b>Tratamentos</b>	<b>(% v/v)</b>	<b>Cromossomo Perdido</b>	<b>Cromossomo aderente</b>	<b>C-Metáfase</b>	<b>Ponte</b>	<b>Quebra</b>	<b>AC TOTAIS</b>	<b>Micronúcleo (%)</b>
<b>EE</b>	100	0±0.03 ab	0±0.01 abc	0.04±0.06 ab	0.06±0.11 ab	0±0.03 abc	0.12±0.16 a	0.28±0.11 ab
	75	0.02±0.03 ab	0±0.01 abc	0.12±0.06 ab	0.32±0.11 ab	0.02±0.03 abc	0.50±0.16 a	0.24±0.11 ab
	50	0.08±0.03 abc	0±0.01 abc	0.02±0.06 ab	0.22±0.11 ab	0.02±0.03 abc	0.38±0.16 a	0.2±0.11 ab
	25	0±0.03 ab	0±0.01 abc	0.10±0.06 ab	0.08±0.11 ab	0±0.03 abc	0.18±0.16 a	0.12±0.11 ab
	12.5	0.08±0.03 abc	0.02±0.03 ab	0.32±0.06 b	0.26±0.11 ab	0.02±0.03 abc	0.72±0.16 a	0.34±0.11 ab
<b>EA</b>	100	0.02±0.03 ab	0±0.01 abc	0.18±0.06 ab	0.24±0.11 ab	0±0.03 abc	0.44±0.16 a	0.12±0.11 ab
	75	0.04±0.03 ab	0±0.01 abc	0.02±0.06 ab	0.14±0.11 ab	0.04±0.03 abc	0.24±0.16 a	0.04±0.11 ab
	50	0±0.03 abc	0±0.01 abc	0.02±0.06 ab	0.1±0.11 ab	0.02±0.03 abc	0.14±0.16 a	0.06±0.11 ab
	25	0.04±0.03 ab	0±0.01 abc	0±0.06 a	0.24±0.11 ab	0.02±0.03 abc	0.30±0.16 a	0.04±0.11 ab
	12.5	0±0.03 abc	0±0.01 abc	0.04±0.05 ab	0.20±0.11 ab	0.06±0.03 abc	0.32±0.16 a	0±0.11 ab
<b>Água</b>	-	0.04±0.03 a	0±0.01 a	0.06±0.06 a	0.18±0.11 a	0.08±0.03 a	0.40±0.16 a	0.08±0.11 a
<b>MMS</b>	-	0.10±0.03 b	0±0.01 b	0.22±0.06 b	0.30±0.11 b	0.06±0.03 b	0.68±0.16 b	0.24±0.11 b
<b>Glifosato</b>	-	0.14±0.03 c	0±0.01 c	0.68±0.06 c	0.86±0.11 c	0.06±0.03 c	1.82±0.16 c	1.62±0.11 c

Médias±S.E seguidas pela letra a são estatisticamente iguais a água; médias seguidas pela letra b são estatisticamente iguais ao MMS (metanossulfonato de metila); médias seguidas pela letra c são estatisticamente iguais ao glifosato, médias seguidas por \* diferiram significativamente de todos os controles pelo teste de Dunnett ( $p < 0,05$ ). S.E: Erro padrão. AC TOTAIS: Alterações cromossômicas totais.



### 5.3. Atividade antioxidante dos extratos foliares de *Cissus verticillata*

Para avaliar a atividade antioxidante dos extratos aquoso e etanólico, levou-se em consideração o EC<sub>50</sub>, que informa a concentração necessária de uma amostra para neutralizar 50% do radical livre. Por meio do teste de DPPH foi possível observar a atividade antioxidante dos extratos das folhas de *Cissus verticillata*. O extrato etanólico apresentou uma melhor atividade no método de DPPH, onde seu EC<sub>50</sub> foi menor que o do Ácido Ascórbico que foi um dos padrões utilizados, 364,65 µg.mL<sup>-1</sup>, 826,33 µg.mL<sup>-1</sup> respectivamente.(Tabela 5).

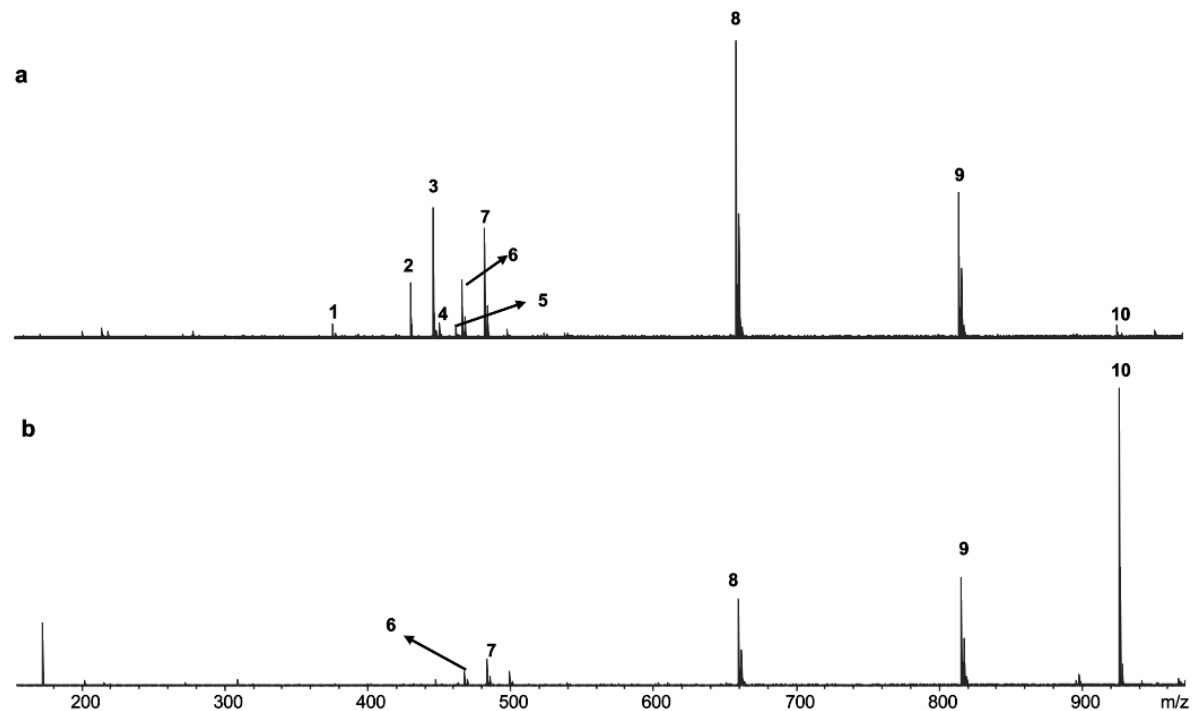
O extrato aquoso também apresentou atividade antioxidante, apesar da sua ação não ser comparável àquelas obtidas pelos padrões e pelo extrato etanólico (Tabela 5), apresentando um EC<sub>50</sub> de 982,51 µg.mL<sup>-1</sup>.

Tabela 5. Valores de EC<sub>50</sub> representando a atividade antioxidante dos extratos aquoso e etanólico das folhas de *Cissus verticillata* para o método DPPH.

Amostra	DPPH EC <sub>50</sub> (µg.mL <sup>-1</sup> )
Ácido Ascórbico (Padrão)	826,33
Trolox (Padrão)	53,01
Extrato Aquoso	982,51
Extrato Etanólico	364,65

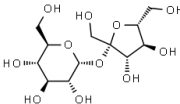
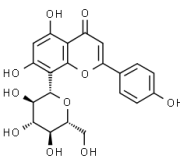
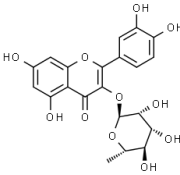
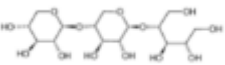
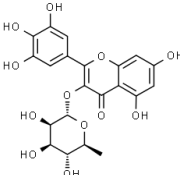
### 5.4. Análise da composição química dos extratos foliares de *Cissus verticillata*

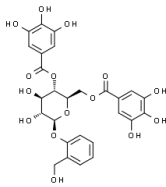
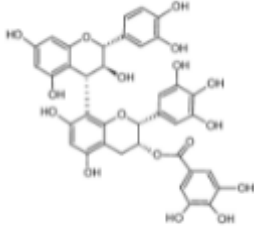
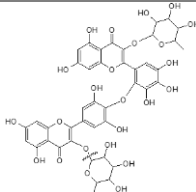
Os espectros de massas obtidos dos extratos aquoso e etanólico de *Cissus verticillata* podem ser vistos na Figura 3 e Tabela 6.



**Figura 3.** Perfil cromatográfico dos extratos aquoso e etanólico das folhas de *Cissus verticillata*. (a) Extrato aquoso, (b) Extrato etanólico. 1) Sacarose; 2) Vitexina; 3) Quercitrina, 4) Xilotriitol; 5) Miricitrina; 6) Aduto de cloro de vitexina; 7) Aduto de cloro de quercitrina; 8) Tanino gálico; 9) Catequina-(4 $\alpha$ -8)-epigallocatechin-3-gallate; 10) dímero de miricitrina.

Tabela 6. Composição química dos extratos aquoso e etanólico das folhas de *Cissus verticillata*.

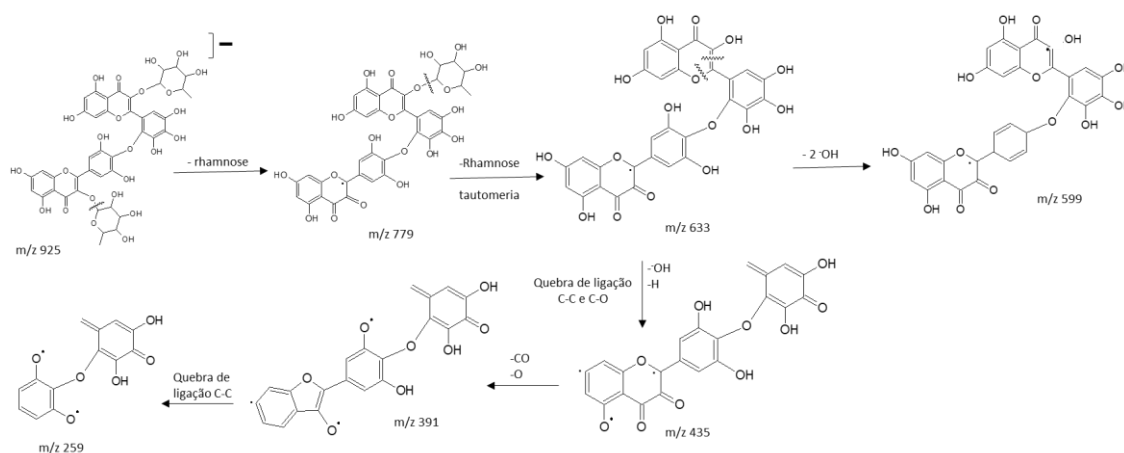
Pico	m/z medido	Fórmula molecular [M-H] <sup>-</sup>	Composto identificado	Estrutura proposta	Extrato Aquoso	Extrato etanólico
1	377.08582	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub> Cl	Sacarose		+	-
2	431.09856	C <sub>21</sub> H <sub>19</sub> O <sub>10</sub>	Vitexina		+	-
3	447.09348	C <sub>21</sub> H <sub>19</sub> O <sub>11</sub>	Quercitrina		+	-
4	451.12264	C <sub>15</sub> H <sub>28</sub> O <sub>13</sub> Cl	Xilotriitol		+	-
5	463.08861	C <sub>21</sub> H <sub>19</sub> O <sub>12</sub>	Miricitrina		+	-
6	467.07535	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>10</sub> Cl	Aduto de cloro de Vitexina	-	++	+
7	483.07022	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub> Cl	Aduto de cloro	-	++	+

de Quercitrina						
8	659.05701	C <sub>27</sub> H <sub>25</sub> Cl <sub>2</sub> O <sub>15</sub>	Tanino Gálico		++	+
9	815.07903	C <sub>37</sub> H <sub>29</sub> Cl <sub>2</sub> O <sub>17</sub>	Catequina-(4α-8)-epigalocatequina-3-galato		+	+
10	925.17023	C <sub>42</sub> H <sub>38</sub> O <sub>24</sub>	Dímero de miricitrina		+	+

+: Presença do composto no extrato. ++: Composto foi identificado em uma maior proporção. -: Ausência do composto no extrato.

Para o extrato aquoso foi observado um pico majoritário com m/z de 659 identificado como um tanino hidrolisável do tipo gálico (Tabela 6). No extrato etanólico pode-se observar a presença desse mesmo tanino, porém numa proporção menor. Na região entre m/z 377 a 483 observam-se picos mais intensos no extrato aquoso sendo, os picos m/z 377 e 451 característicos dos açúcares sacarose e xilotriitol, respectivamente. Nessa mesma região foram identificados flavonoides glicosilados como a vitexina (m/z 431), Quercitrina (m/z 447) e miricitrina (m/z 463). Já os adutos de cloro de vitexina (m/z 467) e quercitrina (m/z 483) foram observados em ambos os extratos, porém em menor proporção no etanólico. O pico m/z de 815 é visto nos 2 extratos analisados e identificado como sendo um tanino condensado de catequina. Já no extrato etanólico observa-se um pico majoritário em m/z de 925 referente a um dímero de miricitrina. Esse dímero foi caracterizado pela sequência de fragmentação. A proposta de ligação entre os monômeros foi sugerida nas posições 4'-2''' do anel A do flavonoide (Figura 4). Nesse dímero ocorre a perda de 2 açúcares de rhamnose (m/z 146) dando, inicialmente, o pico desprotonado m/z 799 e em seguida o pico referente ao dímero de miricitrina em m/z de 633. A partir do dímero aglicona, 2 vias de fragmentações são possíveis. Uma é a perda de 2 hidroxilas (-OH) m/z de 34 originando o íon desprotonado m/z 599 e a outra é pela sequência de quebras de ligações carbono-carbono e carbono-oxigênio, dando origem aos íons m/z de 435, 391 e 259, respectivamente, de acordo o mecanismo de fragmentação proposta na figura 4.

**Figura 4. Proposta de mecanismo de fragmentação na formação do dímero de miricitrina-miricitrina.**



## 6. DISCUSSÃO

A composição química dos tratamentos fornece dados sobre os possíveis efeitos toxicogénéticos e antioxidante encontrados. No rastreamento fitoquímico dos extratos aquoso e etanólico, foram identificadas as classes de metabólitos, flavonoides, polifenóis, taninos e açúcares. Foi identificado como composto majoritário no extrato aquoso o ácido gálico e no extrato etanólico o dímero de miricitrina. A presença do dímero de miricitrina está relacionada a utilização de temperatura elevada no processo de eliminação do solvente, tendo em vista que a estabilidade estrutural dos polifenóis está ligada a alterações de pH, temperatura, luz, oxigênio e outros fatores (Ramos-Pineda, Garcia-Estevez, Duenas e Escribano-Bailon, 2018; Liu & Zhao, 2019). Cao e colaboradores (2020) relataram que a miricitina quando foi exposta a temperatura de 37°C já apresenta uma instabilidade na sua estrutura, resultado também relatado por Cao, Högger, et al. (2020), onde demonstrou que após 5 minutos de exposição à temperatura de 37°C ocorreu a formação do dímero de miricitrina.

Os outros compostos identificados, como o ácido gálico, catequina, também já foram identificados no extrato de *Cissus verticillata* por Feitosa et al. (2021). O flavonoide vitexina, que foi identificado no presente trabalho, também foi encontrado na *C. verticillata*, porém na análise de uma tintura extraída da planta (BARBOSA, VINCIERI, et al. 2013). Não há registros de quecitrina em *C. verticillata*, porém Godoy, et al (2020) relatou este composto em outra espécie do gênero *Cissus*.

Blum (1999) aponta que as características mais sensíveis no desenvolvimento da planta são a emergência da plântula e seu crescimento. Portanto, os aspectos das raízes, como a massa seca e o alongamento, junto com a parte aérea da planta são características utilizadas e indicadas para observar a ação fitotóxica de uma substância (INDERJIT & DAKSHINI, 1995; ARAGÃO et al., 2015). Além das características do desenvolvimento da plântula, Carvalho (1993), Vasconcelos et al. (2019), Dutra et al. (2020) relatam que aleloquímicos, quando liberados em concentrações suficientes podem interferir na germinação e no IVG. Nesta perspectiva, podemos observar que a fitotoxicidade dos extratos sobre *A. cepa* ocorreu tanto no processo de crescimento da plântula quanto no processo de germinação.

A atividade alelopática dos extratos aquoso e etanólico das folhas de *Cissus verticillata* sobre *A. cepa*, foi demonstrada em condições de laboratório, sendo

identificado um efeito inibitório sobre as três características analisadas (Índice de Velocidade de Germinação, Germinação e Crescimento Radicular), principalmente no extrato etanólico, onde a atuação do extrato aquoso só foi observada na inibição do crescimento radicular. Esses resultados sugerem que as concentrações do extrato etanólico das folhas de *C. verticillata* possuem efeito fitotóxico.

Os resultados obtidos estão diretamente relacionados à composição química dos extratos, tendo em vista que no rastreamento fitoquímico dos extratos aquoso e etanólico, foi observado a presença das classes de metabólitos, flavonoides, polifenóis, taninos e açúcares.

Os flavonoides, fenóis e taninos são metabólitos comumente associados ao efeito alelopático (TAIZ et al., 2017). Gog et al. (2005), John & Sarada (2012) Vasconcelos (2020) descreveram a capacidade dos fenóis em alterar vários processos fisiológicos e bioquímicos, causando alterações na permeabilidade de membranas, na fotossíntese, além de interferir na divisão celular, afetando assim o crescimento e o desenvolvimento do vegetal. Esses efeitos fitotóxicos podem ser considerados manifestações secundárias dos compostos testados, manifestações essas que podem estar ocorrendo a nível celular ou molecular, além de alterações no ciclo celular e no DNA (FERREIRA & AQUILA, 2000; PRATES, et al., 2000). Portanto, análises microscópicas são extremamente relevantes, pois são capazes de contribuir com a elucidação dos mecanismos de atuação dos extratos no ciclo-celular.

Em relação a citotoxicidade dos extratos aquoso e etanólico das folhas de *C. verticillata*, foi levado em consideração o índice mitótico (IM) e as fases de divisão celular como parâmetros para avaliar a atividade, tendo em vista, que o IM é indicado para esse tipo de análise (LEME & MARIN-MORALES, 2009).

Com relação ao IM em células meristemáticas de *A. cepa* foi possível notar efeito citotóxico do extrato etanólico nas concentrações 75, 50 e 25 (% v/v) e na concentração 100 (% v/v) do extrato aquoso, tendo em vista que houve uma diminuição do IM em relação ao controle negativo, trabalho de Vicentini et al. (2001), testando a concentração de 0,7mg/ml do extrato de *Cissus verticillata*, não notou efeito citotóxico do extrato. Sáenz (2000) também testando o extrato da *C. verticillata* em cultura de células HEp-2 relatou efeito citotóxico, por meio da atividade antimitótica.

O resultado obtido no IM relaciona-se aos valores observados de cada fase da divisão celular, onde observa uma diminuição nas seguintes fases, metáfases, anáfases e telófases. Nas concentrações 75 e 12,5 (% v/v) do extrato aquoso e na concentração

12,5 (% v/v) do extrato etanólico nota-se uma diminuição pontual na anáfase, redução essa que pode estar relacionada ao último ponto de checagem do ciclo celular (GALTER, et al., 2020). Esse ponto de checagem verifica se os cromossomos estão unidos corretamente ao fuso mitótico (MOLINARI, 2000; SWANTON 2004).

Com relação ao potencial genotóxico e mutagênico dos extratos aquoso e etanólico das folhas de *Cissus verticillata*, nenhuma concentração testada apresentou alterações cromossômicas e micronúcleo significativamente superior ao controle negativo. Portanto, podemos aferir que nenhuma concentração avaliada exibiu efeito genotóxico e mutagênico sobre as células meristemáticas de *A. cepa*.

É comumente relacionado a diminuição do IM com alterações cromossômicas, tendo em vista que as alterações interferem em etapas do processo de divisão, principalmente as alterações com ações aneugênicas, tendo em vista que essas interferem nas proteínas que formam e regulam o fuso mitótico (VASCONCELOS, 2020).

No entanto, este estudo observou a ausência de alterações cromossômicas com uma diminuição concomitante do índice mitótico. Esses resultados, podem ser devido à presença da atividade antioxidantes dos extratos das folhas de *Cissus verticillata* (OWOLARAFE, et al., 2020). Estudos de Ihegboro, et al. (2018) e Khan, Anas e Malik (2019) demonstraram que os antioxidantes apresentam a capacidade de melhorar o reparo do DNA, assim, como modular a toxicidade.

A atividade antioxidante dos extratos aquoso e etanólico foi demonstrada por meio do teste DPPH, onde o extrato etanólico se mostrou mais eficiente do que o extrato aquoso, apresentando um  $EC_{50}$  364,65  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ . DA SILVA et al. (2014) analisando a atividade antioxidante dos extratos da farinha proveniente da casca do maracujá *Passiflora edulis*, também encontraram uma maior atividade antioxidante no extrato etanólico.

A atividade antioxidante dos extratos se deve a sua composição química. Os flavonoides de uma forma geral, apresentam o poder antioxidante devido à sua capacidade de sequestro dos radicais livres (KANDASWAMI & MIDDLETON, 1994; SHAHIDI & ZHONG, 2010). Nota-se que foram identificados nos extratos das folhas de *Cissus verticillata* alguns flavonoides, que já tiveram sua atividade antioxidante descrita, como é o caso da vitexina, Gökbulut, Özhan, et al. (2010) e An, Yang, et al. (2012), Li et al. (2016) relataram a capacidade de sequestro da quercitrina (quercetina-3-O-ramnosídeo) através do método de DPPH. Outro flavonoide também identificado nos extratos que teve sua atividade antioxidante comprovada, foi a miricitrina, onde



apresentou um poder de captura dos radicais livres por meio de uma reação em cadeia que compreende uma etapa de propagação e uma etapa de terminação (LI, et al., 2019).

Além dos flavonoides, a Catequina 4- $\alpha$ -8-epigallocatequina galato também teve sua atividade antioxidante relatada por HO, et al. (1992) e NISHIDA, et al. (1994).

Portanto, a atividade antioxidante é facilmente explicada devido aos compostos presentes nos extratos. Além de sugerir que os efeitos genotóxicos e mutagênicos ausentes nas células meristemáticas seja pela presença dessa atividade, já que a formação de reativos de Oxigênio e Nitrogênio (EROS e ERNS) é essencial para a genotoxicidade, tendo em vista a grande relação entre produção de ROS e quebras do DNA (BOLTON, et al., 2000; NEVES et al. 2013; GALUCIO, 2014). Em síntese, quanto maior a atividade antioxidante menor a genotoxicidade encontrada.

## 7. CONCLUSÃO

As análises de fitotoxicidade e citotoxicidade indicaram que o extrato etanólico de *Cissus verticillata* em altas concentrações pode apresentar efeitos fitotóxico e citotóxico. Esses efeitos podem ser explicados pelos componentes químicos presentes no extrato, como os flavonoides, taninos e polifenóis, já que esses compostos são associados a efeitos alelopáticos.

Os extratos das folhas de *Cissus verticillata* apresentaram capacidade de sequestro de radicais livres pelo método de DPPH, onde o extrato etanólico se mostrou mais eficiente no sequestro de radicais livres em comparação ao extrato aquoso.

A atividade antioxidante encontrada nos extratos pode auxiliar na compreensão da ausência de alterações cromossômicas e mutagênicas, tendo em vista que a formação de reativos de Oxigênio e Nitrogênio (EROS e ERNS) é essencial para a genotoxicidade, existindo uma grande relação entre estresse oxidativo e quebras na molécula de DNA.

Com bases nos resultados obtidos é possível sugerir que os extratos aquoso e etanólico de *Cissus verticillata* não apresenta potencial toxicogenético capaz de danificar o material genético nas concentrações testadas. Apresentando ainda, atividade antioxidante, atuando na captura de radicais livres, o que pode sugerir uma atividade antimutagênica.

Levando em consideração a ausência de genotoxicidade e mutagenicidade o uso da planta pela população como forma de tratamento e prevenção de doenças é seguro. Mas vale ressaltar que outros estudos devem ser considerados para segurar o uso da planta como medicinal.

## 8. REFERÊNCIAS

- AN, F.; YANG, G.; TIAN, J.; WANG, S. Antioxidant effects of the orientin and vitexin in *Trollius chinensis* Bunge in D-galactose-aged mice. **Neural Regeneration Research**, 7, 2565, 2012.
- ARAGÃO, F.B., PALMIERI, M.J., FERREIRA, A., COSTA, A. V., QUEIROZ, V.T., PINHEIRO, P.F., ANDRADE-VIEIRA, L.F., 2015. Phytotoxic and cytotoxic effects of eucalyptus essential oil on lettuce (*Lactuca sativa* L.). **Allelopath. J.** 35, 259–272.
- ARAGÃO, F. B. Prospecção da toxicidade e atividade enzimática de fungicidas por meio de bioensaios com *Lactuca sativa*. **Dissertação** – (Biologia Vegetal), Vitória, 93f., 2017.
- ASLAM, D. N.; HORWATH, W.; VANDERGHEYNST, J. S. Comparison of several maturity indicators for estimating phytotoxicity in compostamended soil. **Waste Management**, California, v. 28, n. 11, p. 2070-2076, 2007.
- BAGATTINI, M.D.; SILVA, A.C.F.; TEDESCO, S.B. Uso do sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. **Rev. Bras. Farmacogn.** 2009; 17(3): 444-7.
- BARBOSA, W. L. R., VINCIERI, F. F., et al. characterisation of flavonoid glycosides in pharmacopoeial preparation of *Cissus verticillata* (L) nicolson & c. e. jarvis) using hplc-dad and hplc-ms. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research.** 4(10); 3871-3876. doi: 10.13040/IJPSR. 0975-8232.4(10).3871-76. 2013.
- BIANCHI, M.L.P.; ANTUNES, L. M. G. Free Radicals And The Main Dietary Antioxidants. **Revista de nutrição.** Campinas, v. 35, n. 1, p. 123–130, 1999.
- BLUM, U., 1999. Designing laboratory plant debris-soil bioassays: some reflections. **Principles and practices in plant ecology: allelochemical interactions**, 17-24.
- HO, C.; CHEN, Q.; SHI, H.; ZHANG, K.; ROSEN, R.T. Antioxidative effect of polyphenol extract prepared from various Chinese teas. **Prev. Med.**, v. 21, n. 4, p. 520-525, 1992.
- BORGES, L.L.; LUCIO, T.C.; GIL, E.S.; BARBOSA, E. F. Uma abordagem sobre métodos analíticos para determinação da atividade antioxidante em produtos naturais. **Enciclopédia biosfera**, Centro Científico Conhecer, v. 7, n. 12, p. 1–20, 2011.
- CANTRELE, L. P. Erva-Mate E Atividade Antioxidante. 2005. 99 f. **Dissertação** (Ciência e Tecnologia de alimentos), Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2005.
- CAO, H, YI, L, ZHONG, J, et al. Investigation of new products and reaction kinetics for myricetin in DMEM via an in situ UPLC–MS–MS analysis. **Food Frontiers.** 2020; 1: 243–252. <https://doi.org/10.1002/fft2.19>.

CAO, H., HÖGGER, P., ARROO, R., & XIAO, J. B. (2020). Flavonols with a catechol or pyrogallol substitution pattern on ring B readily form stable dimers in phosphate buffered saline at four degrees Celsius. **Food Chemistry**, 311, 125902.

CAPASSO R.; IZZO, A.A.; PINTO, L.; BIFULCO T.; VITTOBELLO C.; MASCOLO N. Phytotherapy and quality of herbal medicines. **Fitoterapia**. 2000; 71(1): S58-S65.

CARVALHO, S.I.C. Caracterização dos efeitos alelopáticos de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu no estabelecimento das plantas de *Stylosanthes guianensis* var. vulgaris cv. 85 Bandeirante. 1993. 72 f. **Dissertação** (mestrado em Zootecnia). Centro de Ciências Agrárias. Universidade Federal de Viçosa, Brasil, 1993.

CARVALHO, W. F. **Avaliação de danos genéticos e correlação com polimorfismos nos genes GSTM1 e GSTT1 em trabalhadores ocupacionalmente expostos a agrotóxicos em municípios goianos com intensa atividade agrícola**. 2014. 103 f. Dissertação (Mestrado em Genética) – Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Goiânia, 2014.

CARVALHO, W. P. et al. Alelopatia de resíduos de plantas de cobertura no controle de braquiária cv. Marandu. *Revista Brasileira de Biociências*, Planaltina/DF, v. 14, n. 2, p. 60-69, 2016.

CORRADI DA SILVA, M. DE L.; FUKUDA, E.K.; VASCONCELOS, A.F.D.; DEKKER, R.F.H.; MATIAS, A.C.; MONTEIRO, N.K.; CARDOSO, M.S.; BARBOSA, A.M.; SILVEIRA, J.L.M.; SASSAKI, G.L.; CARBONERO, E.R. Structural characterization of the cell wall d-glucans isolated from the mycelium of *Botryosphaeria rhodina* MAMB-05. **Carbohydrate Research**, v. 343, n. 4, p. 793–798, 2008

COSTA, A. C. D. et al. Citotoxicidade das águas do rio do Peixe (São Paulo-Brasil), em células meristemáticas de raiz de *Allium cepa* L. **Bioscience Journal**, Maringá - PR, v. 31, n. 1, p. 248-258, 2014.

COX, P.A.; BALICK, M.J. The ethnobotanical approach to drug discovery. **Scientific American**. v. 27, p.82-87, 1994.

DAMASCENO, J. L.; ARNET, Y. F. et al. Investigation of safety profile of four copaifera species and of kaurenoic acid by Salmonella/microsome test. **Evid. Based Complement Altern. Med.** 2019.

DA SILVA, J. K., CAZARIN, C. B. B., et al. Antioxidant capacity and chemical composition of passion fruit peel (*Passiflora edulis*). **Tecnologia De Alimentos - Cienc. Rural**, v. 44 (9), 2014 • <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20131437>.

DEARFIELD, K.L.; CIMINO, M.C.; MCCARROLL., N.E.; MAUER, I.; VALCOVIC, L.R. Genotoxicity risk assessment: a proposed classification strategy. **Mutation Research**, v. 521, p. 121-135, 2002.

DELARMELINA, J. M. *Bidens pilosa* L. Análises da composição química e atividades biológicas de diferentes populações e condições de cultivo *Bidens pilosa* L. 2017. 166 f. **Tese** (Biologia Vegetal), Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2017.

DUTRA, Q.P, CHRIST, J.A, CARRIJO T.T, et al. Phytocytotoxicity of volatile constituents of essential oils from *Sparattanthelium* Mart. species (Hernandiaceae). **Sci Rep.** 2020; 10(1):12213. Published 2020 Jul 22. doi:10.1038/s41598-020-69205-6.

FAGUNDES, G. E. Influência de sucos de hortaliças fonte de luteína e betacaroteno sobre a genotoxicidade induzida por agentes alquilantes em camundongos. 2012. 73 f. **Dissertação** (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, 2012.

FARIAS, M.R. Avaliação de qualidade de matérias-primas vegetais. p. 197-200. In: SIMÕES CMO. **Farmacognosia da Planta ao Medicamento**. UFSC. 2001.

FEITOSA, J. M., SANTOS, R. C., et al. Phychemical characterization, preliminary toxicity and biological potential of *Cissus sicyoides* leaves. Caracterización fitoquímica, toxicidad preliminar y potencial biológico de las hojas de *Cissus sicyoides* L. (2021). **Research, Society and Development**. v. 10, n. 6. doi:https://doi.org/10.33448/rsd-v10i6.15771.

FERNANDES, G.; BANU, J. Medicinal properties of plants from the genus *Cissus*: a review. **Journal of Medicinal Plants Research**. Vol. 6(16), pp. 3080-3086, 2012.

FERREIRA, A.G., AQUILA, E.M.E.A. Alelopatia: Uma área emergente da ecofisiologia, in: **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**. 2000.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais Livres: Conceitos E Mecanismo De Lesão. **Rev Ass Med Brasil**, v. 43, n. 1, p. 61–69, 1997

FERREIRA, G. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE ESPÉCIES DE *Pterocaulon* (ASTERACEAE). 2009. 73 f. **Dissertação** (Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

FI UCHE, APRIOKU J. S. The phytochemical constituents, analgesic and anti-inflammatory effects of methanol extract of *Jatropha curcas* leaves in mice and Wister albino rats. **J. Appl. Sci. Environ. Manag.**, 12 (4) (2008), pp. 99 - 102.

FIGUEIRA, A. C. G. Avaliação das atividades angiogênica/antiangiogênica e mutagênica/antimutagênica do óleo essencial da *Lantana camara* (cambará). 2017. 84 f. **Dissertação** – (Genética), Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Goiânia - GO, 2017. Disponível em: <<http://tede2.pucgoias.edu.br:8080/handle/tede/3713#preview-link0>>. Acesso em: 06 jul. 2020.

FILOCREÃO, A. S. M.; GALINDO, A. G.; DOS SANTOS, T. J. S. Fitoterapia na Amazônia: a experiência do estado do Amapá-Brasil. **Desenvolvimento e Meio ambiente**, v. 40, 2017.

FIORENZA, M. et al. Análise fitoquímica e atividade alelopática de extratos de *Eragrostis plana* Nees (capim-annoni). **Iheringia**, v. 71, n. 2, p. 193-200, 2016.

FRANÇA, I.; SOUZA, J.; BAPTISTA, R.; BRITTO, V. Medicina popular: benefícios e malefícios das plantas medicinais. **Revista Brasileira de Enfermagem**. v. 61, n. 2, p. 201-208, 2008.

FREITAS, W. A. et al. Plantas medicinais e pessoas com tuberculose: descrição de práticas de cuidado no norte da Bahia, 2017\* \* Estudo oriundo da dissertação de mestrado de autoria de Walter Ataalpa de Freitas Neto, intitulada 'Condições de vida e o consumo de plantas medicinais no itinerário terapêutico de pessoas com tuberculose no norte da Bahia, 2017', apresentada junto ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde e Biológicas da Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF) em 2019. **Epidemiologia e Serviços de Saúde [online]**. 2020, v. 29, n. 5. Acessado em 1 junho de 2021, disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1679-49742020000500006>>.

GALUCIO, N. C. R. Estudos de citotoxicidade e genotoxicidade de *Eleutherine plicata* Herb. 2014. 96 f. **Dissertação** (Ciências farmacêuticas). Universidade Federal do Pará, Belém, 2014.

GERVÁSIO, S. V. Atividade antioxidante, alelopática e antígeno-tóxica do exopolissacarídeo carboximetilado botriosferana. 2019. 70 f. **Dissertação** (Biologia Vegetal), Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2019.

GIESE, E. C.; SUMIYA, A.F.G.; BORSATO, D.; DEKKER, R.F.H.; BARBOSA, A.M. Free-radical scavenging properties and antioxidant activities of botryosphaeran and some other  $\beta$ -D-glucans. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 72, p. 125–130, 2015.

GOG, L., BERENBAUM, M.R., DELUCIA, E.H., ZANGERL, A.R. Autotoxic effects of essential oils on photosynthesis in parsley, parsnip, and rough lemon. **Chemoecology**. <https://doi.org/10.1007/s00049-005-0294-8>. 20005

GODOY, B. S. A., SINHORIN, V. D. G., et al. First phytochemical study and biological activity of the leaves ethanolic extract from *Cissus spinosa* Cambess. (2020). **Scientia Medica Porto Alegre**, v. 30, p. 1-17. doi: <http://dx.doi.org/10.15448/1980-6108.2020.34860>.

GÖKBULUT, A.; ÖZHAN, O.; KARACAOĞLU, M.; ŞARER, E. Radical Scavenging Activity and Vitexin Content of *Vitex agnus-castus* Leaves and Fruits. **FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences**, 35, 85, 2010

GUIDOTI, D.G.M.; GUIDOTI, D.T.; BERTI, A.P.; DÜSMAN E.; VICENTINI V.E.P. Potencial mutagênico do extrato aquoso de *Allium cepa* L. em células hematopoiéticas de ratos Wistar. **Rev. Bras Bioci.** 2014; 12(1):42-5.

HO, C.; CHEN, Q.; SHI, H.; ZHANG, K.; ROSEN, R.T. Antioxidative effect of polyphenol extract prepared from various Chinese teas. **Prev. Med.**, v. 21, n. 4, p. 520-525, 1992.

IHEGBORO, G. O., ONONAMADU, C. J., OWOLARAFE, A. T., AFOR, E., ZAHARADEEN, I. K. Antioxidants in plant extracts may contribute to the modulation of their toxicity: an insight with *Allium cepa* model. **NISEB J.**, 18 (2), pp. 92-104, 2018.

INDERJIT, DAKSHINI, K.M.M., 1995. On laboratory bioassays in allelopathy. **Bot. Rev.** <https://doi.org/10.1007/BF02897150>.

INDERJIT, 2005. Soil microorganisms: An important determinant of allelopathic activity. **Plant Soil.** <https://doi.org/10.1007/s11104-004-0159-x>

INDERJIT, DUKE, S.O., 2003. Ecophysiological aspects of allelopathy. **Planta**, 217, 529– 539.

IQBAL, M., ABBAS, M., NISAR, J., NAZIR, A., QAMAR, A. Z. Bioassays based on higher plants as excellent dosimeters for ecotoxicity monitoring: A review. **Chemistry Internacional.** v. 5. n. 1, p. 1-100, 2019.

ISTIFLI, E. S., HÜSUNET, M. T., ILA, H. B. Cell division, cytotoxicity, and the assays Used in the Detection of cytotoxicity. **Cytotoxicity.** IntechOpen. Rijeka. 2019. (6). doi: 10.5772/intechopen.88368.

JIGNA, P.; SUMITRA C.V. In vitro antimicrobial activity and phytochemical analysis of some Indian Medicinal plants. **Turk. J. Biol.** v.31, p.53-58, 2007.

JOHN, J., SARADA, S., 2012. Role of phenolics in allelopathic interactions. **Allelopath. J.**

JORGE, M. M. P. Avaliação da fitotoxicidade de compostos orgânicos e da desintegração de materiais: contributo para aferição das normas técnicas: EN 16086-1 e ISO 20200. **Dissertação** – (Engenharia do Ambiente), Universidade Nova de Lisboa, Portugal, 105 f., 2018.

KANDASWAMI, C., MIDDLETON, E. J. R. Free radical scavenging and antioxidant activity of plants flavonoids. **Adv. Exp. Med. Biol.**, Nova Iorque, v. 366, p. 351-376, 1994.

KARLSSON, M. F. Control de mosca branca *Aleurotrachelus socialis* Bondar (Hemiptera: Aleyrodidae). **Minor Field Studies.** Tese. Universidad Sueca de Agricultura, 2005.

KHAN, S., ANAS, M., MALIK, A. Mutagenicity and genotoxicity evaluation of textile industry wastewater using bacterial and plant bioassays. **Toxicol. Rep.**, 6, pp. 193-201, 2019.

KRÜGER, R. A. Análise da toxicidade e da genotoxicidade de agrotóxicos utilizados na agricultura utilizando bioensaios com *Allium cepa*. 2009. 58 f. **Dissertação** – (Qualidade Ambiental), Centro Universitário Feevale, Novo Hamburgo-RS, 2009. Disponível em: <<https://aplicweb.feevale.br/site/files/documentos/pdf/29080.pdf>>. Acesso em: 09 jul. 2020.

LAPIDOT T, WALKER MD, KANNNER J. Antioxidant and prooxidant effects of phenolics on pancreatic - cells in vitro. **J Agric Food Chem.** 50(25):7220-5. 2002.

LEME, D.M., ANGELIS, D.F., MARIN-MORALES, M.A. Action mechanisms of petroleum hydrocarbons present in waters impacted by an oil spill on the genetic material of *Allium cepa* root cells. **Aquatic Toxicology**, n. 88, p. 214-219. 2008.

LEME, D.M., MARIN-MORALES, M.A. Chromosome aberration and micronucleus frequencies in *Allium cepa* cells exposed to petroleum polluted water--A case study. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, n. 650, p. 80-86. 2008.

LEME, D.M., MARIN-MORALES, M.A., 2009. *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, n. 682, p. 71-81. 2009.

LI, X., JIANG, Q., et al. Comparison of the Antioxidant Effects of Quercitrin and Isoquercitrin: Understanding the Role of the 6"-OH Group. **Molecules.** 21(9), 2016. doi: 10.3390/molecules21091246.

LI, X., OUYANG, X., CAI, R., CHEN, D. 3',8"-Dimerization Enhances the Antioxidant Capacity of Flavonoids: Evidence from Acacetin and Isoginkgetin. (2019). **Molecules**, v.24(11). doi: 10.3390/molecules24112039.

LI, X., OUYANG, X., LIANG, M., CHEN, D. Comparative Analysis of Radical Adduct Formation (RAF) Products and Antioxidant Pathways between Myricetin-3-O-Galactoside and Myricetin Aglycone. (2019). **Molecules**, v.24(15). doi: 10.3390/molecules24152769.

LIMA, B. B., FERNANDES, F. P. Uso e diversidade de plantas medicinais no município de Aracati – CE, Brasil. **Journal applied pharmaceutical Science.** n. 8, p. 24-42. 2020.

LIU, W. N., & ZHAO, X. H. (2019). Changes of the stability and bioactivity of quercetin and myricetin in BGC-823 cells in response to heat treatment and Fe<sup>2+</sup>/Cu<sup>2+</sup> addition. **Journal of Food Measurement and Characterization**, 13, 3285–3297.



LOMBARDI, J.A. Vitaceae - Gêneros Ampelocissus, Ampelopsis e Cissus. Fl. Neotrop. **Monogr.** 80: 1-251. 2000

LOPES, C. V. Informantes folk em plantas medicinais no Sul do Brasil: contribuições para enfermagem. 2010. 108 f. **Dissertação** (Mestrado em Enfermagem) – Programa de Pós-Graduação em Enfermagem, Faculdade de Enfermagem e Obstetrícia, Universidade Federal de Pelotas, 2010.

LUCENA, F. R. S. Verificação das atividades citotóxicas e antitumoral do *Cissus sicyoides* em associação com (Glucana  $\beta$ -1,3-D-Glicopirranose) Imunoglucan. 2009. 65 f. **Dissertação** (Mestrado Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Pernambuco, 2009.

MACIEL, J. C. et al. Interferência de plantas daninhas no crescimento da cultura do trigo. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 4, n. 3, p. 23-29, 2017.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA JÚNIOR, V. F.; GRYNBERG, N. F.; ECHEVARRIA, A. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v. 25, n. 3, p. 428-438, 2002.

MADHU, S. E.; SREEJA, H.; PRIYA, J. S. A preliminary study on phytochemical, antioxidant and cytotoxic activity of leaves of *Naregamia alata* Wight & Arn. **Materials Today: Proceedings**, v.25, n. 2, p. 343-348, 2020.

MATTOS, G. et al. Plantas medicinais e fitoterápicos na Atenção Primária em Saúde: percepção dos profissionais. **Ciência & Saúde Coletiva [online]**. 2018, v. 23, n. 11. p. 3735-3744. Acessado em 1 junho 2021, disponível em: <https://doi.org/10.1590/1413-812320182311.23572016>

MELO, J.G.; MARTINS, J.D.S.P; AMORIM, E.L.C.; ALBUQUERQUE, U.P. Qualidade de produtos à base de Plantas Medicinais comercializadas no Brasil: castanha-da-india (*Aesculis hippocastanum*), capim-limão (*Cymbopog on citrus*) e centelha (*Centella asiática*). **Acta bot. bras.** 2007; 21(1):27-36.

MILTERSTEINER, A., MILTERSTEINER, D., et al. The long term use of quercetin in cirrhotic rats. **Acta Cr. Bras.** 18(3). 2003. doi: <https://doi.org/10.1590/S0102-86502003000300011>.

MOLINARI, M. Cell cycle checkpoints and their inactivation in human cancer. **Cell Prolif** 33:261–274. 2000. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2184.2000.00191>.

MORAIS, L. A. S. Óleos essenciais no controle Fitossanitário. **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. p. 139-152. Jaguariúna. 2019.

MORAIS, M. L.; SILVA, A.C.R.; ARAÚJO, C.R.R.; ESTEVES, E.A.; DESSIMONI-PINTO, N.A.V. Determinação do potencial antioxidante in vitro de frutos do Cerrado brasileiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 2, p. 355–360, 2013.

MR VANU, S. PALANIVELU, S. PANCHANATHAM. Immunomodulatory and anti-inflammatory effects of *Semecarpus anacardium* Linn. nut milk extract in experimental inflammatory conditions. **Biol. Pharm. Touro.**, 29 (2006), pp. 693 - 700.

HO, C.; CHEN, Q.; SHI, H.; ZHANG, K.; ROSEN, R.T. Antioxidative effect of polyphenol extract prepared from various Chinese teas. **Prev. Med.**, v. 21, n. 4, p. 520-525, 1992.

NISHIDA, H.; OMORI, M.; FUKUTOMI, Y.; NINOMIYA, M.; NISHIWAKI, S.; SUGANUMA, M.; MORIWAKI, H.; MUTO, Y. Inhibitory effects of (-)-epigallocatechin gallate on spontaneous hepatoma in C3H/HeNCrj mice and C human hepatoma-derived PLC/PRF/5 cells. **Jpn. J. Cancer Res.**, v. 85, p. 221-225, 1994.

NUNES, A.P.M.; ARAUJO, A.C. Ausência de genotoxicidade do esteviosídeo em *E. coli*. In Semana de Iniciação Científica da UERJ, Rio de Janeiro. 2003; Anais. p.15.

OLIVEIRA, J. T. D. Avaliação in vitro da mutagenicidade e antimutagenicidade do fármaco digoxina. 2016. 105 f. **Dissertação** – (Ciências da Saúde), Universidade Federal de São João Del-Rei, São João Del-Rei, 2016. Disponível em: <[https://www.ufsj.edu.br/portal2repositorio/File/ppgcs/Dissertacoes%202016/Dissertacao JuliaTeixeira.pdf](https://www.ufsj.edu.br/portal2repositorio/File/ppgcs/Dissertacoes%202016/Dissertacao%20JuliaTeixeira.pdf)>. Acesso em: 09 jul. 2020.

OWOLARAFE, T. A., SALAWU, K., et al., Investigation of cytotoxicity potential of different extracts of *Ziziphus mauritiana* (Lam) leaf *Allium cepa* model. **Toxicology Reports**, v. 7, p.816-821, 2020.

PEREIRA, M.L., MONTEIRO C.N., et al. Evaluation of effects of *Poincianella bracteosa* (Tul.) L.P. Queiroz leaves in *Allium cepa* and *Mus musculus*. **Biotechnic & Histochemistry**, 95:6, 464-473, 2020, DOI: [10.1080/10520295.2020.1719197](https://doi.org/10.1080/10520295.2020.1719197).

PRATES, H.T., PAES, J.M.V., DE PIRES, N.M., PEREIRA FILHO, I.A., MAGALHÃES, P.C. Efeito do extrato aquoso de leucena na germinação e no desenvolvimento do milho. **Pesqui. Agropecu. Bras.** 2000. <https://doi.org/10.1590/s0100-204x2000000500007>.

PONTES, R. P. S. Síntese e imobilização de nanopartículas de fibroína em substrato têxtil: avaliação da citotoxicidade e adesão celular. 2018. 76 f. **Dissertação** – (Engenharia Mecânica), Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal-RN, 2018. Disponível em: <[https://repositorio.ufrn.br/jspui/bitstream/123456789/25786/1/S%3%adnteseimobili70za%3%a7%3%a3onanopart%3%adculas\\_Pontes\\_2018.pdf](https://repositorio.ufrn.br/jspui/bitstream/123456789/25786/1/S%3%adnteseimobili70za%3%a7%3%a3onanopart%3%adculas_Pontes_2018.pdf)>. Acesso em: 06 jul. 2020.

PEÑA, L. F. M. Uso do teste de micronúcleo em eritrócitos circulantes de peixes para monitorização de um local do rio Tibagi e avaliação da genotoxicidade de agrotóxicos

em bioensaios. 1996. 125 f. **Dissertação**. Universidade Estadual de Londrina, Londrina. 1996.

PORRAS TORRES, M., CARDOZO LOPEZ, J., CHAPARRO, T.R. Removal of organic matter and toxicity in an upflow immobilized biomass anaerobic reactor treating hospital wastewater: preliminary evaluation. **Dyna** **80**, 124-130, 2013.

RAMAR, M. K., DHAYANANDAMOORTHY, Y. et al. PLC-ESI-QqQ based standardization, mutagenic and genotoxic potential of methanol extract of *Ziziphus mauritiana* Lam leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, V. 246, 2020, 112216, ISSN 0378-8741, <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112216>.

RAMOS-PINEDA, A. M., GARCIA-ESTEVEZ, I., DUENAS, M., & ESCRIBANO-BAILON, M. T. (2018). Effect of the addition of mannoproteins on the interaction between wine flavonols and salivary proteins. **Food Chemistry**, 264, 226–232.

RE, R.; PELEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improvised ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26, n. 9/10, p. 1231-1237, 1999.

RICE, E.L., 1984. **Allelopathy**. Academic Press, London, UK.

Rio Grande do Sul. Resolução da Secretaria da Saúde Nº 695, de 20 de dezembro de 2013. Aprovar a Política Estadual de Práticas Integrativas e Complementares. **Diário Oficial do Estado do Rio Grande do Sul**, 2013.

RODRIGO R, RIVERA G. Renal damage mediated by oxidative stress: a hypothesis of protective effects of red wine. **Free Radic Biol Med**. v. 33. 2002.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS+. **EMBRAPA**, Fortaleza-CE, 2007.

SAND, S. V. Influência da l-glutamina exógena nas defesas antioxidantes e na curva de tolerância à glicose, em modelo animal. 2005. 140 f. **Dissertação** (Fármacos e Medicamentos), - Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina, 2005.

SAÉNZ, M. T.; GÁRCIA, M. D.; QUILEZ, A.; AHUMADA, M. C. Cytotoxic activity of *Agave intermixta* L. (Agavaceae) and *Cissus sicyoides* L. (Vitaceae). **Phytorepy Research**, v. 14, n. 7, p. 552-554, 2000.

SANTOS, R. L.; GUIMARÃES, G. P.; NOBRE, M. S. C.; PORTELA, A. S. Análise sobre a fitoterapia como prática integrativa no Sistema Único de Saúde. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 13, n.4, p. 486-491, 2011.

SHAHIDI F., ZHONG Y. Lipid oxidation and improving the oxidative stability.. **Chem. Soc. Rev.**, 39: 4067–4079, 2010. doi: 10.1039 / b922183m.

SILVA, C. T. L. da. Avaliação biológica dos extratos obtidos das sementes de *Vatairea guianensis* (Aublet). 2011, 118 f. **Dissertação** (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Pará, 2011.

SILVA, D. B. Estudo fitoquímico e avaliação citotóxica de *Chloroleucon extortum* Barney & J. W. Grimes (Jurema Branca). 2020. 54 f. **Dissertação** (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Pernambuco, Recife, 2020.

SIRIVIBULKOVIT, K.; NOUANTHAVONG, S.; SAMEENOI, Y. Paper-based DPPH Assay for Antioxidant Activity Analysis. **Analytical Sciences**, v. 34, n. 7, p. 795–800, 2018.

SLOCZNSKA, K.; POWROZINC, B.; PEKALA, E.; WASZKIELEWICZ, A. M. Antimutagenic compounds and their possible mechanisms of action. **Journal applied genetics**. v. 55. p.273-285, 2014.

SOUZA, W. Avaliação da atividade antioxidante e compostos fenólicos de extratos vegetais. 2013. 37 f. **Trabalho de conclusão de curso** (Tecnologia em alimentos) - Universidade Tecnológica do Paraná, Campo Mourão, 2013.

SUCUPIRA, N.R.; SILVA, A.B.; PEREIRA, G.; COSTA, J. N. Métodos Para Determinação da Atividade Antioxidante de Frutos. **UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde**, v. 14, n. 4, p. 263– 270, 2012.

SWANTON, C. Cell-cycle targeted therapies. **Lancet Oncol.** 5:27–36. 2004. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(03\)01321-4](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(03)01321-4).

TAIZ, L., ZEIGER, E., MOLLER, I. MAX, MURPHY, A., 2017. **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**, Artmed. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-32304-1\\_19](https://doi.org/10.1007/978-3-642-32304-1_19).

TERRAZAS, P. M. Estudo do potencial genotóxico da Gutiferona A em diferentes células de camundongos *in vivo*. 2013. 67f. **Dissertação** (Mestrado em Biologia Geral e Aplicada) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2013.

TRAUTMANN, N. M.; KRASNY, M. E. **Composting in the Classroom: Scientific Inquiry for High School Students**. 1. ed. New York: Hunt Publishing Company, 1998. p. 1-116.

VASCONCELOS, S.M.L.; GOULART, M.O.F.; MOURA, J.B.F.; BENFATO, V.M.M.S.; KUBOTA, L. T. Espécies Reativas De Oxigênio E De Nitrogênio, Antioxidantes E Marcadores De Dano Oxidativo Em Sangue Humano: Principais Métodos Analíticos Para Sua Determinação. **Química nova**. v. 30, n. 5, p. 1323–1338, 2007.

VASCONCELOS, L.C., SANTOS, E.S., BERNARDES, C.O., FERREIRA, M.F. S., FERREIRA, A., TULER, A.C., CARVALHO, J.A.M., PINHEIRO, P.F., PRAÇA-FONTES,

M.M., 2019. Phytochemical analysis and effect of the essential oil of *Psidium L.* species on the initial development and mitotic activity of plants. **Environ. Sci. Pollut. Res.** <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05912-6>.

VASCONCELOS, L.C. Efeito alelopático de *Myrcia vitoriana* Kiaersk (MYRTACEAE). 2020, 72 f. **Dissertação** (Mestrado Genética e Melhoramento. Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre. 2020.

VÁSQUEZ, S. P. F; MENDONÇA, M. S.; NODA, S. N. Etnobotânica de plantas medicinais em comunidades ribeirinhas do Município de Manacapuru, Amazonas, Brasil. **Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia**, v. 44, n.4, p.457 - 472, 2014.

VICENTINI VEP, CAMPAROTO ML, TEIXEIRA RO, MANTOVANI MS. *Averrhoa carambola* L., *Syzygium cumini* (L.) Skeels and *Cissus sicyoides* L.: medicinal herbal tea effects on vegetal and test systems. **Acta Scientiarum** 23: 593-598. 2001.

WEIR, T.L., PARK, S.W., VIVANCO, J.M., 2004. Biochemical and physiological mechanisms mediated by allelochemicals. **Curr. Opin. Plant Biol.** <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2004.05.007>.

WHO (World Health Organization). **Cardiovascular diseases**. 2011. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/index.html> <acessado em 13 de maio de 2021>.

WU K, YUAN LH, XIA W. Inhibitory effects of apigenin on the growth of gastric carcinoma SGC-7901 cells. **World J Gastroenterol**. 11(29):4461-4. 2005.

YAJÍA, M. E.; MARTÍ, D. A.; BIDAU, C. J.; AMAT, A. G.; RIGLOS, A. G.; SILVESTRONI, A. Genotoxicity evaluation of *Allophylus edulis* (Camb.) Radlk. (Sapindaceae) aqueous extract. **ISHS Acta Horticulturae 501: II WOCMAP Congress Medicinal and Aromatic Plants, Part 2: Pharmacognosy, Pharmacology, Phytomedicine, Toxicology**, 1999.

ZENI, A. L. B.; PARISOTTO, A. V., MATTOS, G., HELENA, E. T. S. Utilização de plantas medicinais como remédio caseiro na atenção primária de Blumenau, Santa Catarina, Brasil. **Ciênc. Saúde colet.** 22 (8) Ago 2017 • <https://doi.org/10.1590/1413-81232017228.18892015>.