

Potencial citotóxico, genotóxico e mutagênico de frações do extrato de *Cróton* L. (Euphorbiaceae)

Cytotoxic, genotoxic and mutagenic potential of *Cróton* L. extract fractions (Euphorbiaceae)

Potencial citotóxico, genotóxico y mutagénico de *Cróton* L. fracciones de extracto (Euphorbiaceae)

Recebido: 18/02/2022 | Revisado: 25/02/2022 | Aceito: 06/03/2022 | Publicado: 12/03/2022

Victor Mateus Pinheiro Fernandes

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5130-3085>
Universidade Estadual do Maranhão, Brasil
E-mail: vmpf13@gmail.com

André Ricardo Ferreira da Silva Rocha

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0422-4453>
Universidade Federal de Viçosa, Brasil
E-mail: andrercd06@gmail.com

Vitor Emanuel Sousa da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7002-3572>
Universidade Estadual do Maranhão, Brasil
E-mail: vemanuel0612@gmail.com

Erasmão Pereira do Vale Junior

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7538-3822>
Universidade Estadual do Piauí, Brasil
E-mail: erasmojr2017@outlook.com

Vilzielle de Araújo Moreira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1009-8078>
Universidade Federal do Pará, Brasil
E-mail: vilziellea.moreira@gmail.com

Francielle Aline Martins

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0113-8023>
Universidade Estadual do Piauí, Brasil
E-mail: franufv@yahoo.com.br

Eliana Campêlo Lago

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6766-8492>
Universidade Estadual do Maranhão, Brasil
E-mail: anaileogal@gmail.com

Resumo

O consumo indiscriminado de plantas medicinais pela população pode ocasionar efeitos negativos, uma vez que, certas substâncias presentes podem ser tóxicas. Espécies de *Cróton* L. são frequentemente utilizadas na forma de infusões e chás na medicina tradicional. Objetivou-se avaliar o potencial mutagênico, genotóxico e citotóxico de frações do extrato de *Cróton* spp. (Euphorbiaceae). Os testes ocorreram em células meristemáticas de *Allium cepa* tratadas com diferentes concentrações das frações. Na análise dos resultados foram observados potenciais citotóxicos e mutagênicos em *Cróton betaceus* e *Cróton lundianus*. O fracionamento demonstrou efeitos tóxicos nas espécies, com o aparecimento de aberrações cromossômicas e nucleares como: micronúcleos, quebras cromossômicas e brotos, pontes, anáfases multipolares, aderências cromossômicas revelando possíveis efeitos nocivos ao ser humano, bem como reforçando e elucidando que o uso de plantas medicinais deve ser realizado de forma consciente e responsável pois algumas plantas possuem potenciais de intoxicação e devem, portanto, serem consumidas com a atenção e cuidado.

Palavras-chave: Fitoterapia; Plantas medicinais; Toxicidade.

Abstract

The indiscriminate consumption of medicinal plants by the population can cause negative effects, since certain substances present can be toxic. *Cróton* L. species are often used in the form of infusions and teas in traditional medicine. The aim of this study was to evaluate the mutagenic, genotoxic and cytotoxic potential of *Cróton* spp. (Euphorbiaceae). The tests took place in meristematic cells of the *Allium cepa* strain treated with different concentrations of fractions. In the analysis of the results, cytotoxic and mutagenic potentials were observed in *Cróton betaceus* and *Cróton lundianus*. Fractionation showed toxic effects in the species, such as the appearance of micronuclei, chromosome breaks and sprouts, bridges, multipolar anaphases, chromosome adhesions revealing possible harmful effects to humans, as well as reinforcing and elucidating that the use of medicinal plants must be carried out properly

conscious and responsible because some plants have intoxication potential and must, therefore, be consumed with care and attention.

Keywords: Phytotherapy; Plants medicinal; Toxicity.

Resumen

El consumo indiscriminado de plantas medicinales por parte de la población puede provocar efectos negativos, ya que determinadas sustancias presentes pueden resultar tóxicas. Las especies de *Cróton* L. se utilizan a menudo en forma de infusiones y tés en la medicina tradicional. El objetivo de este estudio fue evaluar el potencial mutagénico, genotóxico y citotóxico de *Cróton* spp. (Euphorbiaceae). Las pruebas se realizaron en células meristemáticas de *Allium cepa* tratadas con diferentes concentraciones de las fracciones. En el análisis de los resultados, se observaron potenciales citotóxicos y mutagénicos en *Cróton* *betaceus* y *Cróton* *lundianus*. El fraccionamiento mostró efectos tóxicos sobre la especie, como la aparición de micronúcleos, roturas y brotes cromosómicos, puentes, anafases multipolares, adherencias cromosómicas que revelan posibles efectos nocivos para el ser humano, además de reforzar y dilucidar que se debe realizar el uso de plantas medicinales. debidamente consciente y responsable porque algunas plantas tienen potencial de intoxicación y, por lo tanto, deben consumirse con atención y cuidado.

Palabras clave: Medicina herbaria; Plantas medicinales; Toxicidad.

1. Introdução

O uso de plantas medicinais como terapia alternativa para o tratamento de patologias, tem sido uma prática comum há milhares de anos (Dutra, et al., 2016). No Brasil, grande parte da população utiliza esse recurso como principal fonte terapêutica (Gonçalves, et al., 2018). No entanto, sabe-se que há riscos, devido ao potencial tóxico de algumas plantas que podem causar prejuízos à saúde, dessa forma, recomenda-se que o uso deva ser inspecionado e ponderado (Funari & Ferro, 2005). O agravante é que a maioria dessas plantas, não foi suficientemente estudada no que se refere ao seu potencial mutagênico, genotóxico e citotóxico (Verri, et al., 2018).

A falta de informações e o uso indiscriminado de plantas aplicadas à fitoterapia elevam o risco de exposição a agentes carcinogênicos e teratogênicos que podem ocasionar, dentre outros, o aparecimento de anomalias genéticas no embrião durante a gravidez (Gorriil, et al., 2016). Nesse contexto, é de grande importância estudos que avaliem o potencial tóxico, assim como os eventuais danos causados ao organismo humano, principalmente aos relacionados com o aumento da taxa de mutações do material genético em níveis mais basais (Verri, et al., 2018).

Cróton L., é o segundo maior e mais diversos gênero da família Euphorbiaceae. Possui cerca de 1300 espécies em regiões tropicais e subtropicais em todo o mundo (Santos, et al., 2014). No Brasil, compreende aproximadamente 356 espécies, encontradas principalmente na região nordeste (Secco, et al., 2012). Espécies de *Cróton* são frequentemente utilizadas na medicina popular na forma de infusões e chás (Abreu, et al., 2001). Sua utilização inclui tratamentos para o câncer, constipação, diabetes, problemas digestivos, disenteria, febre, hipertensão, inflamação, malária, (Salatino et al., 2007). Para as espécies *Cróton betaceus* e *C. lundianus*, estudos evidenciam ainda o potencial larvicida dos extratos foliares (Silva, et al., 2020).

Apesar de frequentemente utilizadas na medicina popular os efeitos adversos de plantas medicinais nem sempre são conhecidos, sendo algumas tóxicas quanto seus compostos metabólitos secundários, e capazes de causar alterações a nível celular em humano ou animais (Campos, et al., 2016). Assim, indaga-se a possibilidade deste gênero, bem como outros, a existência, em sua composição fitoquímica, de substâncias que podem causar intoxicação, e em quais concentrações isso ocorre.

Os efeitos citotóxicos genotóxicos e mutagênicos gerados por substâncias presentes podem ser traçados por ações da inibição e divisão celular, índices como mitóticos e replicação são parâmetros de proliferação adequada das células, sendo avaliados por sistema teste vegetal *Allium cepa*, pelo Programa Internacional de Segurança Química (IPCS, WHO) e também pelo Programa Ambiental das Nações Unidas sendo bioindicador eficiente na detecção de citogenotoxicidade de substâncias (Pastori, et al., 2015).

Verificar o potencial tóxico de extratos de *Cróton* sp, faz-se necessário, sendo que, trata-se de uma planta fitoterápica intensamente utilizado no nordeste do Brasil, e que ainda não apresenta todas as suas propriedades e mecanismos tóxicos totalmente elucidados. Dessa forma, esse trabalho tem o objetivo avaliar o potencial mutagênico, genotóxico e citotóxico de frações do extrato etanólico foliar de espécies do gênero *Cróton* (Euphorbiaceae) frente células meristemáticas de *Allium cepa*, a fim de trazer informações que auxiliem na produção de novos fármacos e na validação da segurança do consumo pela população.

2. Metodologia

2.1 Seleção e obtenção do material vegetal

Para os extratos, utilizou-se folhas frescas de *Cróton betaceus* Baill (3,5 kg/-4.885973, -43.410064) e *Cróton lundianus* (Didr.) Müll. Arg (5,5 kg/-4.913059, -43.429960) coletadas pela manhã. As exsiccatas foram depositadas no Herbário Afrânio Fernandes (HAF) da Universidade Estadual do Piauí (UESPI), sob voucher HAF 04642 e HAF 04644, respectivamente. Os procedimentos foram submetidos ao Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) sob A8C212C.

2.2 Extração dos compostos e fracionamento

Em ambiente com baixa incidência luminosa, as folhas das espécies de *Cróton* passaram por secagem à 26°C ±1. Para *Cróton betaceus* houve uma quantidade de (460,86g) de folhas secas tendo como rendimento total de 3,39 %. Sendo estes, no extrato bruto (1,37g), fração hexânica (9,11g) e a clorofórmica (2,41g) com grande equivalência na fração hexânica (CBHX), com 58,18%. Observou-se menor rendimento em *C. lundianus* (1,03 %), em 1974,11g de folhas secas. Para o extrato bruto de *C. lundianus* (9,2g) nas frações hexânicas e clorofórmicas tiveram (4,40g) e (2,39g) respectivamente. Por conseguinte, os rendimentos totais são semelhantes aos retratados na literatura para o gênero, em que o solvente utilizado na extração tem destaque no percentual de rendimento de cada fração e, nestes, está intimamente ligado à ordem dos solventes no processo de partição (Oliveira, et al. 2016). Após foram trituradas até estado de pó. O extrato foi obtido em etanol a 99,8 %, em um extrator de vidro (26 °C ±1). O solvente foi removido em evaporador rotativo acoplado a uma bomba de vácuo e em seguida liofilizado. Os extratos etanólicos foram suspensos em uma mistura Metanol/Água (MeOH/H₂O) (2:3) e submetidos, sucessivamente, ao processo de divisão líquido-líquido com Hexano (C₆H₁₄) e Clorofórmio (CHCl₃), segundo Úchoa et al (2016). Os testes foram realizados a fração hexânica (HX) e clorofórmica (CH), para ambas as espécies.

2.3 Citotoxicidade, genotóxicidade e mutagenicidade

Após germinadas, as sementes de *Allium cepa* estiveram em contato com as frações hexânica e clorofórmica das espécies de *Cróton* nas concentrações de 5,0; 10 e 20 mg/mL por 24h, sendo essas concentrações determinadas por apresentarem atividade biológica. As raízes tiveram seu crescimento celular interrompido com o fixador de Carnoy 3:1. Após três lavagens em água destilada, as raízes foram hidrolisadas com HCl 1N à 60°C, em banho-maria, por 10 minutos. Em seguida, foram coradas com reativo de Schiff, por até 2 horas em ambiente escuro e lavadas em água destilada. Em lâmina, o meristema radicular foi destacado, e adicionado uma gota de carmim acético 2%, e coberto com uma lamínula (Guerra & Souza, 2002).

Como controle negativo foi utilizado dimetilsulfóxido (DMSO 1%), e como controle positivo, utilizou-se o metil metano-sulfonato (MMS - 10 mg/ml). Utilizou-se ainda água destilada, como controle do solvente, permitindo crescimento normal das células meristemáticas sem tratamento (Dias, et al., 2013).

A citotoxicidade foi determinada pelo índice mitótico (IM= número de células em diferentes fases da mitose dividido

pelo número total de células), a genotóxicidade reflete os índices de alteração cromossômica (IAC = número de alterações cromossômicas dividido pelo número total de células observadas) e a mutagênicidade foi registrado a ocorrência de micronúcleo e quebras cromossômicas presentes nas células submetidas aos tratamentos, sendo calculado pelo índices de mutagênicidade (IMt = número total de células alteradas dividido pelo total de células observadas).

A análise das células foi realizada em microscópio óptico, 400x, percorrida de forma aleatória e sequencial. Foram analisadas para cada tratamento 500 células em 10 lâminas, totalizando uma contagem de 5000 células por tratamento.

2.4 Análise estatística

Os dados das análises foram expressos como média \pm desvio padrão dos valores, com o teste de Kruskal-Wallis, e auxílio do programa BioEstat 5.0. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos quando $p < 0,05$.

3. Resultados e Discussão

Pesquisas realizadas com plantas medicinais comprovam efeitos benéficos de seu uso, recentemente foi demonstrado também o seu potencial larvicida de *Cróton betaceus* e *Cróton lundianus* em formas larvais de *Aedes aegypti* (Silva, et al., 2020). No entanto, estudos insuficientes sobre os efeitos adversos das plantas podem levar a sérios danos.

Na análise dos resultados em relação a citotoxicidade, observou-se a redução do índice mitótico em todas as frações avaliadas nas concentrações de 10 e 20mg/mL, já na menor concentração (5.0mg/mL) a atividade citotóxica foi observada apenas para CBHX. A citotóxicidade de CBHX, na maior concentração (20mg/mL) observou-se uma ação citotóxica, com 16,58 de índice mitótico. Este índice é maior que o apresentado nas demais concentrações (5.0 e 10mg/mL), onde se verificou medias de 13.80 e 13.44 todos esses resultados com significância estatística ($p < 0,05$) sobre comparação de postos de Kruskal-Wallis com relação ao controle negativo.

Nos ensaios de citotóxicidade de CBCH, verificou-se uma diminuição do índice mitótico com o aumento da concentração, em todos os tratamentos, com exceção da menor concentração (5.0mg/mL), que obteve 21.91. Nos tratamentos de 10 e 20mg/mL observou-se médias similares 16,79 e 16,68 de níveis de citotóxicidade, respectivamente.

A citotóxicidade da CLHX, mostrou-se diminuir o índice mitótico com aumento da concentração, assim como os resultados CBCH. Os tratamentos foram observados medias com 17,30 e 13,64 de índice mitótico nas concentrações de 10 e 20mg/mL respectivamente com significância estatística de Kruskal-Wallis.

Em referência a citotóxicidade de CLCH apresenta resultados semelhantes tanto com CLHX, quanto CBHX, onde o índice mitótico reduz com o aumento da concentração. Esse dado é importante, uma vez que influencia nos níveis de genotóxicidade e mutagênicidade mostrados nesse tipo de teste. Para essa fração, o tratamento a 5.0mg/mL mostrou um índice de 22.56, o tratamento 10mg/mL, média de 15.07 e 20mg/mL, demonstrou um índice de 14.33. Nas análises desses tratamentos é possível observar que maiores concentrações do extrato causam riscos graves para quem faz uso. Dessa forma, é necessário cautela com uso de plantas com potencial medicinal.

Estudos realizados por Maltezo e colaboradores (2020) com extratos aquosos de *Artemisia absinthium*, frente *Allium cepa* obtiveram resultados semelhantes, tendo em vista, que apresentaram citotoxicidade sobre as células meristemáticas, sendo que das análises o extrato triturado demonstrou maior potencial, apesar de que nessas avaliações não foram realizados testes genotóxicos e mutagênicos. No entanto, infere-se que a hipótese de que os efeitos citotóxicos elevados podem disfarçar o potencial mutagênico e genotóxico, em células de *A. cepa*.

Segundo Fão e colaboradores (2012) em pesquisa realizada com *Cróton lechleri*, nas concentrações de 0.1, 0.3, 0.6mg/mL não foram observados efeitos citotóxicos, entretanto, foi verificado presença de micronúcleos em 1mg/mL, demonstrando atividade mutagênica dessa espécie. Vale ressaltar que as concentrações utilizadas para os testes destes autores

são menores que as deste estudo, indicando que apenas maiores concentrações são capazes de apresentar efeito citotóxico, porém, em baixas já se observa efeito mutagênico.

Para contribuir com a melhor visualização dos dados, na Tabela 1, são apresentados a estatística em média, desvio padrão e seu nível de significância de ambas as plantas, frações e concentrações, bem como dos testes controles realizados.

Tabela 1: Ensaio de citotoxicidade, genotóxicidade e mutagênica no sistema *Allium cepa* das frações hexânica (HX) e clorofórmica (CH) do extrato etanólico das folhas de *Croton betaceus* e *Croton lundianus*.

Citotóxicidade					
Fr.	Tratamento 24h (mg/mL)				
	DMSO	MMS	5.0	10	20
CBHX	22.77 ± 2.7	29.77 ± 7.7	13.80 ± 5.1*	13.44 ± 3.7*	16.58 ± 4.4*
CBCH			21.91 ± 5.3	16.79 ± 1.7*	16.68 ± 3.3*
CLHX			19.35 ± 6.9	17.30 ± 11.3*	13.64 ± 2.0*
CLCH			22.56 ± 6.9	15.07 ± 3.3*	14.33 ± 1.9*
Genotóxicidade					
Fr.	Tratamento 24h (mg/mL)				
	DMSO	MMS	5.0	10	20
CBHX	0.57 ± 0.4	0.47 ± 0.9	0.87 ± 0.9	0.57 ± 0.6	0.28 ± 0.4
CBCH			1.00 ± 0.9	0.70 ± 0.9	0.75 ± 0.8
CLHX			1.62 ± 1.3	1.08 ± 1.0	0.38 ± 0.5
CLCH			1.43 ± 1.5	1.09 ± 0.5	1.08 ± 0.9
Mutagênica					
Fr.	Tratamento 24h (mg/mL)				
	DMSO	MMS	5.0	10	20
CBHX	1.85 ± 1.2	6.34 ± 2.9	2.02 ± 2.0*	2.14 ± 2.7*	2.98 ± 1.8*
CBCH			2.04 ± 1.9*	1.75 ± 1.6*	2.75 ± 1.3*
CLHX			5.32 ± 4.3	3.90 ± 8.0*	1.11 ± 1.4*
CLCH			2.27 ± 1.8*	1.93 ± 0.4*	1.51 ± 0.8*

Os dados são expressos como média ± desvio padrão das lâminas de cada tratamento. Letras sobrescritas iguais na mesma linha representam dados com similaridade significativa ($p < 0.05$) entre si, pelo teste de Kruskal-Wallis.

Fonte: Elaborado pelos autores (2021).

Estudos científicos que buscavam verificar citotoxicidade também em extrato de plantas com potencial medicinal, demonstraram ausência dessa característica em concentrações 0,7; 0,07; 0,007mg/mL, além disso é descrito que o índice mitótico quando menor que o controle negativo resultam em transformações vindas de agentes químicos no processo evolutivo dos organismos expostos, em contrapartida quando esse índice mitótico é maior que o controle negativo se implica em resposta exagerada de divisão celular, sendo negativo ao material celular, provocando o aparecimento de células tumorais (Santos, et al., 2020).

Estes dados estão em consonância com trabalho pesquisado apesar de concentrações diferentes, nos resultados avaliados em cada concentração nas duas espécies *Cróton betaceus* e *Cróton lundianus* obtiveram taxas estatisticamente significantes diferentes do controle negativo elucidando que os extratos tiveram elevado potencial citotóxico que interferiram na divisão celular.

Com relação às análises de genotóxicidade da fração hexânica (CBHX) do extrato de *Cróton betaceus*, foi possível observar atividade genotóxica, em que se verificou um maior efeito no tratamento a 5.0 mg/mL, com uma média de 0,87,

sendo a única concentração com genotoxicidade maior que o controle negativo, sendo este aumento atribuído ao maior número de alterações cromossômicas do tipo brotos nucleares. As demais concentrações não apresentaram genotoxicidade diferente do controle negativo.

Os resultados de genotoxicidade da fração clorofórmica (CBCH) do extrato de *Cróton betaceus* demonstraram que o maior influxo genotóxico foi em 5,0mg/mL, o de menor concentração. Nos tratamentos de 10 e 20mg/mL foram semelhantes ao controle, mostrando assim, não genotóxicos nessas concentrações. Semelhante ao ocorrido na fração hexânica desta mesma espécie.

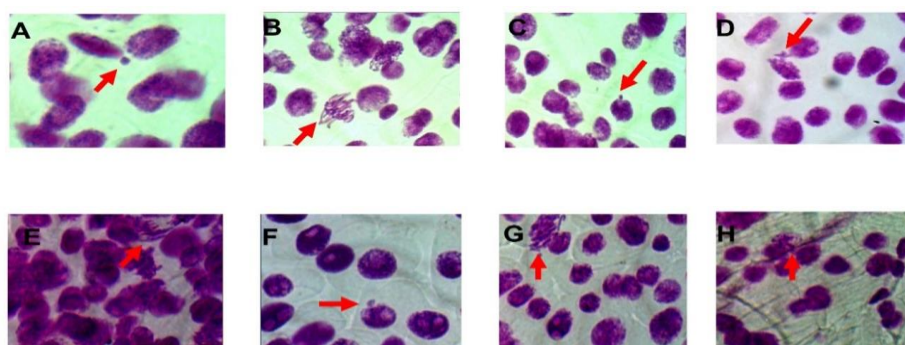
Nos resultados de genotoxicidade da fração hexânica (CLHX) do extrato de *Cróton lundianus* dentre os três tratamentos, o maior efeito foi observado no tratamento a 5.0mg/mL com média de 1,62 sendo as alterações cromossômicas mais presentes os brotos nucleares, da mesma maneira que em (CBHX). No tratamento a 10 e 20mg/mL foram verificadas médias de 1,08 e 0,38 de acordo com a tabela.

A genotoxicidade de CLCH teve como maior nível o tratamento de 5.0mg/mL, com média de 1.43. Os demais tratamentos (10 e 20mg/mL) evidenciaram taxas de genotoxicidade com média de 1.09 e 1.08 respectivamente se comparado ao controle negativo, evidenciando taxas significantes de genotoxicidade nesta fração, sendo observados alterações cromossômicas como: brotos nucleares, pontes, anáfases multipolares, aderência cromossômica nos tratamentos avaliados.

Sob análises estatísticas de Kruskal-Wallis, os resultados de genotoxicidade não foram significantes estatisticamente em ambas as espécies e frações, revelando baixos níveis de genotoxicidade, apesar da presença das anomalias cromossômicas. Pressupõem-se também que os níveis elevados de citotoxicidade podem mascarar os reais efeitos genotóxicos, bem como mutagênicos.

Em paridade das duas frações identificou-se que a fração clorofórmica possui mais alterações cromossômicas que a fração hexânica, inferindo que pode ser mais genotóxica que a hexânica, em ambas o tratamento a 5.0mg/mL apresentou mais aberrações do que os demais tratamentos. Algumas dessas alterações podem ser observadas na Figura 1 abaixo.

Figura 1: Aberrações Cromossômicas e Nucleares em *Allium cepa*. A. Micronúcleo. B. Aderência cromossômica. C. Broto Nuclear. D. Ponte. E. Perda Cromossômica. F. Broto Nuclear. G. C-metáfase. H. Ponte.



Fonte: Elaborado (2021).

pelos autores

Segundo De Paula et al (2015) que avaliaram efeitos citotóxicos e genotóxicos de um determinado extrato por meio do teste de *Allium cepa*, foi verificado a presença de efeito citotóxico e genotóxico, com o bloqueio radical nas fases da mitose, e alteração do índice mitótico nas concentrações utilizadas, com os extratos provocando alterações cromossômicas no processo da divisão celular. Para estes autores, concentrações acima de 20mg/mL apresentam um risco de uso como fitoterápico devido ao acúmulo do efeito tóxico de diversas plantas.

Enfatiza-se a importância do índice mitótico para a análise da citotoxicidade celular em plantas medicinais, e de várias substâncias, haja vista, que o desempenho possibilita um aumento ou diminuição desse atributo, caracterizado pela

citotoxicidade do composto químico presente no extrato, ademais, se considera que é consequência de ações químicas que dificultam a síntese de DNA, logo, diminuindo a fase de mitose (Frota, et al., 2019). Porquanto, isto explica os significantes níveis de citotóxicidade observados nas maiores concentrações nas duas espécies e ambas as frações.

Em comparação ao presente estudo, se observa um contraste, tendo em vista que com o aumento das concentrações as medias de citotóxicidade, genotóxicidade diminuam assim como outros descritos, onde também foi realizada uma análise citotóxica e mutagênica de um extrato, e constatados danos em relação aos efeitos citotóxicos e mutagênicos no uso tradicional (Meneguetti, et al., 2014).

Em relação aos efeitos mutagênicos de CBHX, tendo a presença de micronúcleos como principal característica, este foi proporcional ao aumento da concentração de teste, onde do tratamento de 20mg/mL apresentou uma média de 2.98 significativamente maior que o controle apresentado, nas demais concentrações (5.0 e 10mg/mL) também foram observados efeitos mutagênicos, com 2.02 e 2.14, respectivamente, os tratamentos não diferem do controle negativo, entretanto, obtém significância ($p < 0,05$) com relação ao (MMS) podendo ser mutagênico.

Nas análises sobre o potencial mutagênico de CBCH, o tratamento que apresentou maior efeito foi o de maior concentração (20mg/mL), com 2.75. Seguido pelo tratamento de 5,0 e 10mg/mL, com 2.04 e 1.75 respectivamente. Todos os tratamentos apresentaram atividade mutagênica considerada, sob o teste estatístico Kruskal-Wallis.

Na análise dos dados sobre a mutagênicidade em CLHX verificou-se que os tratamentos a 10mg/mL e a 20mg/mL não diferem do controle negativo, entretanto, obtém significância ($p < 0,05$) com relação ao (MMS) podendo ser mutagênico, mas não tanto quanto o (MMS) sendo suas medias de 3.90 para o tratamento 2 e 1.11 para o tratamento 3. O tratamento a menor concentração 5.0mg/mL demonstrou maior média 5.32, no entanto, apresentou-se não significativa estatisticamente ao (DMSO) e ao (MMS).

Nas análises mutagênicas da CLCH, observou-se medias menores com relação a fração hexânica, contudo, verificou-se significativas ($p < 0,05$) ações mutagênicas em todos os tratamentos se comparado ao controle positivo, tendo esses efeitos elevados de acordo com o aumento das concentrações, quando se parecia as concentrações ao controle negativo não à significância dentro dos testes não paramétricos.

Nas análises dos resultados para CBHX foi ainda evidente a presença de quebras cromossômicas, tidas como evidência de mutagênicidade elevada. Estas quebras revelarem um desempenho descontínuo da molécula de DNA, ocasionando assim o fracionamento, essa parte não terá mais atividade transcrita a célula (Leme & Marin-Morales, 2009). Essas porções derivadas podem resultar do mesmo modo, posteriormente a divisão celular, em micronúcleo, porquanto não possuem centrômeros, assim não se unem ao fuso, consolidando os micronúcleos (Meneguetti, et al., 2011).

É importante ressaltar que as maiores concentrações (10 e 20mg/mL) induziram uma frequência menor de células com efeitos genotóxicos e mutagênicos quando comparada à concentração de 5.0mg/mL em CBHX.

Segundo Ventura et al. (2016), maiores concentrações do extrato inibiram o índice mitótico das células de raízes de *Allium cepa*, sendo que a maioria dessas células se apresentava em interfase, além das raízes que se encontravam em processo de morte celular. Essas concentrações (10 e 20mg/mL) apresentaram um efeito citotóxico mais drástico que 5.0mg/mL, levando as células à morte celular e impedindo que ocorresse os processos que levariam aos indicativos de genotóxicidade e mutagênicidade. Essa análise é válida para ambas as espécies, em suas duas frações.

Estes resultados corroboram com os descritos por Bezerra e colaboradores (2016) para estudos com *Plectranthus barbatus* sobre o ciclo celular do sistema *Allium cepa*, que verificou atividade mutagênica nessa espécie utilizada na medicina popular, e ressalta a importância do uso regulado de chás e infusões com este gênero, visto o alto teor de compostos com potencialidades tóxicas.

Segundo Fão et al., (2012) células que possuem micronúcleos e fragmentos cromossômicos propõem um influxo

mutagênico, haja visto que transcorrem em uma modificação do material genético, que em recusa não ocasiona a variedade celular e que se prolonga durante o ciclo de segmentação. Os micronúcleos são resultados subsequentes dos efeitos mutagênicos, considerando-se que são observadas em células que em parte transitaram por uma fase completa de divisão (Poletto, et al., 2011).

Corroborando com a análise mutagênica, genotóxica e citotóxica do látex de *Synadenium grantii* foi constatado potencial citotóxico em todas as concentrações, e mutagênico nas concentrações 0,8%, 0,2%, 0,1%, 0,05% e 0,025%. Os autores revelam que, nestas concentrações, o efeito mutagênico tem destaque frente os demais devido ao índice mitótico não sofrer grandes alterações, apesar de ser reduzido (Fernandes, et al., 2018).

Estudos recentes com *Cróton menyharthii* procuravam verificar nos extratos da casca da raiz a sua toxicidade, tendo em vista que é uma planta usada como alternativa terapêutica para tratar tênias, hepatites, dismenorrias, obstrução intestinal e doenças reprodutivas. Apesar disso, a administração desses extratos mostrou-se tóxica em uso ao longo prazo ocasionando alterações fisiológicas renais na população testada (ratos), e reiterando o uso criterioso desses extratos (Kagunya, et al., 2020).

Segundo Almeida (2019), ao avaliar o potencial citotóxico, mutagênico e genotóxico do extrato comercial de *Cróton lechleri* em *A. cepa* nas diluições de 0.5, 1.0, 2.0 e 2.5mg/mL, verificou a redução do índice mitótico e a presença de micronúcleos com o aumento das concentrações. Estes resultados assemelham com os de *C. betaceus* e *C. lundianus*, e contribuem para caracterizar o gênero como tóxico em concentrações elevadas do extrato.

Estudos que buscam avaliar toxicidade com espécies de *Cróton* L. estão sendo realizados em maior número, com objetivos de detectar benefícios a saúde consoante a achados de toxicidade e alterações comportamentais causadas por óleos essenciais de *Cróton tetradenius* que demonstrou atividades formicidas frente a uma espécie de formiga, sendo considerada prejudicial ao inseto, pode-se também realizar testes para verificar se seus metabólitos são prejudiciais a humanos (Brito et al., 2020).

Pesquisas com a espécie *Chaptalia nutans*, são usadas na terapêutica popular na região Sul do Brasil, afirmam Souza et al (2020). Em suas análises, os autores verificaram que a planta possui constituintes de potencial oxidante proficiente para áreas farmacêuticas, assim como alimentícias, para mais, os extratos das raízes não demonstraram efeitos citotóxicos e genotóxico sobre teste *Allium cepa* em concentrações 1,5mg/mL, resultados antagonistas a estudos com *Cróton betaceus* e *C. lundianus*.

Tendo em vista, as necessidades da sociedade com relação a investigação de novos meios inovadores no que tange a esfera da saúde e inovações tecnológicas, os testes pré-clínicos, como ensaios toxicológicos em plantas com ação farmacológica, demonstram extrema utilidade na elucidação dos processos que causam modificações no material genético, detectando alterações a níveis celulares (Sanches, et al., 2020).

Estudos recentes em que foram traçados o perfil fitoquímico das espécies em análises nesse trabalho (*Cróton Betaceus* e *Cróton lundianus*) foram identificados os metabólitos secundários do tipo taninos condensados, flavonoides, esteroides, triterpenóides e saponinas, sendo os flavonoides como principal semelhança, ocorrendo em todas as frações em ambas as plantas e como diferença foi possível constatar que o grupo das saponinas são presentes apenas na espécie *C. lundianus*, um adendo, é que o contraste nas frações hexânica ocorre a presença de esteroides e nas frações clorofórmicas triterpenóides (Rocha, et al., 2021). Podendo se inferir que tais compostos atestados influenciam na diferença de resultados para cada atributo avaliado.

Tais características podem, eventualmente, causar danos à saúde (Tedesco, et al., 2015). Os resultados da pesquisa são relevantes, visto a importância da avaliação do potencial tóxico de plantas medicinais, como espécies de *Cróton*, que servirão para orientar a população sobre o uso indiscriminado de extratos vegetais. Nas espécies analisadas, o potencial citotóxico e mutagênico observado nas duas frações indicam que o uso dessas substâncias pode ser regulado, com risco de danos à saúde.

4. Conclusão

Este estudo possibilitou a compreensão de que os efeitos fitoterápicos em *Cróton betaceus* e *Cróton lundianus* não são inócuos para a saúde, visto os resultados de potencial citotóxico e mutagênico presentes em determinadas concentrações. Em ambas as espécies as frações hexânica apresentaram maior significância de potencial citotóxico. Sobre potencial mutagênico a fração clorofórmica teve maior significância estatística do que a fração hexânica nas duas espécies.

O fracionamento demonstrou efeitos tóxicos nas espécies, como o aparecimento de micronúcleos, quebras cromossômicas e brotos, pontes, anáfases multipolares, aderências cromossômicas revelando possíveis efeitos nocivos ao ser humano, bem como reforçando e elucidando que o uso de plantas medicinais deve ser realizado de forma consciente e responsável pois algumas plantas possuem potenciais de intoxicação e devem, portanto, serem consumidas com a atenção e cuidado.

Nesse sentido, compreende-se que futuros testes, in vivo, seriam necessários para avaliar a toxicologia das espécies estudadas, analisando em diversos níveis e parâmetros a fim de reduzir e eliminar riscos tóxicos a saúde humana.

Agradecimentos

A Universidade Estadual do Maranhão – UEMA e a Universidade Estadual do Piauí – UESPI, por todo auxílio. E a todo apoio financeiro para o desenvolvimento deste trabalho, fomentado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq.

Referências

- Abreu, A. D. S., Barbosa, P. S., Müller, A. H., & Guilhon, G. M. S. P. (2001). Constituintes químicos do caule e das cascas do caule de *Croton pullei* var *Glabrior* (Euphorbiaceae). *Revista Virtual de Iniciação Acadêmica da UFPA*, 1(2), 1-9. <https://livrozilla.com/doc/906333/constituintes-qu%C3%ADmicos-do-caule-e-das-cascas>.
- Almeida, F. K. V., Novais, V. P., de Oliveira Salvi, J., & Marson, R. F. (2019). Avaliação tóxica, citotóxica e mutagênica/genotóxica de um extrato comercial de sangue do dragão (*Croton lechleri*). *Revista Fitos*, 13(1), 29-37. 10.17648/2446-4775.2019.605
- Bezerra, C. M., & Oliveira, M. A. S. (2016). Avaliação da toxicidade, citotoxicidade e genotoxicidade do infuso de Malva-Santa (*Plectranthus barbatus*-Lamiaceae) sobre o ciclo celular de *Allium cepa*. *Revista Eletrônica de Farmácia*, 13(4), 220-228. <https://www.revistas.ufg.br/REF/article/view/36887>
- Brito, F. A., Bacci, L., da Silva Santana, A., da Silva, J. E. de Castro Nizio, D. A., de Lima Nogueira, P. C., & Blank, A. F. (2020). Toxicidade e alterações comportamentais causadas por óleos essenciais de *Croton tetradenius* e seus compostos majoritários em *Acromyrmex balzani*. *Proteção de Cultivos*, 137, 105259. 10.1016/j.cropro.2020.105259
- Campos, S. C., Silva, C. G., Campana, P. R. V., & Almeida, V. L. (2016). Toxicidade de espécies vegetais. *Revista Brasileira de plantas medicinais*, 18, 373-382. 10.1590/1983-084X/15_057
- Dias, N. S., Silva, T. C., Barcelos Filho, G. P., Badreddine, J. F., Matozinho, H. H. S., Resende, M. R., & Gomes, F. O. (2013). Projeto de Pesquisa dos efeitos mutagênicos e citotóxicos do Confrei (*Symphytum officinale*) no ciclo celular de *Allium cepa*. *Revista Eletrônica de Farmácia*, 10(3), 10-10. https://www.academia.edu/27821519/Projeto_de_Pesquisa_dos_efeitos_mutag%C3%AAnicos_e_citot%C3%B3xicos_do_Confrei_Symphytum_officinale_no_ciclo_celular_de_Allium_cepa
- Dutra, R. C., Campos, M. M., Santos, A. R., & Calixto, J. B. (2016). Plantas medicinais no Brasil: estudos farmacológicos, descoberta de medicamentos, desafios e perspectivas. *Pesquisa farmacológica*, 112, 4-29. doi:10.1016/j.phrs.2016.01.021
- Fão, F., Zan, R. A., Brondani, F. M. M., Ramos, L. J., & de Oliveira Meneguetti, D. U. (2012). Análise do potencial mutagênico da seiva da casca de *Croton lechleri* (Müll. Arg), no Estado de Rondônia, Amazônia Ocidental. *SaBios-Revista de Saúde e Biologia*, 7(1). <https://revista2.grupointegrado.br/revista/index.php/sabios/article/view/1137/414>
- Fernandes, J. F. D. N., Silva, B. S. D. S., Fontes, R. M. S., Cândido, W. P., & Malavasi, N. V. (2018). Avaliação do potencial citotóxico e mutagênico/genotóxico do látex de janaúba (*Synadenium grantii* Hook. f., Euphorbiaceae). *Revista Pan-Amazônica de Saúde*, 9 (1), 59-65. 10.5123/s2176-62232018000100008
- Frota, R. G., da Silva Amorim, Á., Carneiro, J. K. R., & Oliveira, M. A. S. (2019). Citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade da infusão de *Plectranthus barbatus*-Lamiaceae (malva-santa) avaliada pelo sistema teste *Allium cepa*. *Revista de Ciências Médicas e Biológicas*, 18(1), 67-72. 10.9771/cmbio.v18i1.27020
- Funari, C. S., & Ferro, V. O. (2005). Uso ético da biodiversidade brasileira: necessidade e oportunidade. *Revista brasileira de Farmacognosia*, 15(2), 178-182. 10.1590/S0102-695X2005000200018

- Gorri, L. E., Jacomassi, E., Junior, S. E. M., Dalsenter, P. R., Junior, A. G., & Lourenço, E. L. B. (2016). Risco das plantas medicinais na gestação: uma revisão dos dados de acesso livre em língua portuguesa. *Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR*, 20(1). https://www.researchgate.net/profile/arquimedegasparrattojunior/publication/317253866_risco_das_plantas_medicinais_na_gestacao_uma_revisao_dos_dados_de_acesso_livre_em_lingua_portuguesa/links/5937cc58a6fdcca6588cd86a/risco-das-plantas-medicinais-na-gestacao-uma-revisao-dos-dados-de-acesso-livre-em-lingua-portuguesa.pdf
- Gonçalves, R. N., Gonçalves, J. R. D. S. N., Buffon, M. D. C. M., & Negrelle, R. R. B. (2018). Plantas medicinais: relacionando conhecimento popular e científico na atenção primária à saúde. *Visão acadêmica*, 18(4). 10.5380/acd.v18i4.56123
- Guerra, M., & Souza, M. D. (2002). *Como observar cromossomos: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana*. Ribeirão Preto: FUNPEC, 201. http://www.ensp.fiocruz.br/portal-ensp/_uploads/documentos-pessoais/documento-pessoal_52172.pdf
- Kagunya, E. W., Kaingu, C. K., & Mbaria, J. M. (2020). Toxicidade oral aguda e subaguda e perfil fitoquímico da planta *Croton menyharthii* do condado de Tana River, no Quênia. *Discovery Phytomedicine*, 7 (3), 118-127. 10.15562/phytomedicine.2020.135
- Leme, D. M., & Marin-Morales, M. A. (2009). Teste *Allium cepa* no monitoramento ambiental: uma revisão sobre sua aplicação. *Pesquisa de mutação/revisões em pesquisa de mutação*, 682 (1), 71-81. doi:10.1016/j.mrrev.2009.06.002
- Maltezo, D. P., Rodrigues, A. S., de Oliveira, U. A., dos Santos, L. L., Zortéa, K. É. M., de Pedri, E. C. M., ... & Rossi, A. A. B. (2020). Efeito citotóxico de extratos aquosos de *Artemisia Absinthium* L. Sobre o ciclo celular de *Allium cepa* L. *Brazilian Journal of Development*, 6(9), 64893-64906. 10.34117/bjdv6n9-067
- Meneguetti, D. D. O., Silva, F. D., Zan, R. A., Poletto, P. D. O., & Ramos, L. J. (2011). Adaptação da técnica de micronúcleo em *Allium cepa*, para futuras análises de mutagenicidade dos rios da Região do Vale do Jamari, Rondônia, Amazônia Ocidental. *Revista Pesquisa & Criação*, 10(2), 181-187. <https://docplayer.com.br/50002760-Adaptacao-da-tecnica-de-micronucleo-em-allium-cepa.html>
- Meneguetti, D. U. D. O., Lima, R. A., da Silva, J. B., da Silva, R. P., de Cassia Pagotto, R., & Facundo, V. A. (2014). Análise Citotóxica e Mutagênica do Extrato Aquoso de *Maytenus Guyanensis* Klotzsch ex Reissek (Celastraceae) Chichuá (xixuá) Amazônico. *Ciência e Natura*, 36(3), 301-309. 10.5902/2179460X13343
- Oliveira, V. B., Zuchetto, M., Oliveira, C. F., Paula, C. S., Duarte, A. F. S., Miguel, M. D., & Miguel, O. G. (2016). Efeito de diferentes técnicas extrativas no rendimento, atividade antioxidante, doseamentos totais e no perfil por clade de *dicksonia sellowiana* (presl.). Hook, dicksoniaceae. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 18, 230-239. 10.1590/1983-084X/15_106
- Pastori, T., Kuhn, A., Tedesco, M., Hoffmann, C. E., Neves, L. A. S., Canto-Dorow, T. S., & Tedesco, S. B. (2015). Ação genotóxica e antiproliferativa de *Polygonum punctatum* Elliott (Polygonaceae) sobre o ciclo celular de *Allium cepa* L. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 17, 186-194. 10.1590/1983-084X/13_023
- Paula, R., Bueno, S., Schmitt, K. F., Tiago, A., & Rossi, A. A. (2015). Sistema teste de *allium cepa* como bioindicador de citotoxicidade e genotoxicidade em *aristolochia elegans* mast. *Enciclopédia Biosfera*, 11(21). <http://www.conhecer.org.br/enciclop/2015b/agrarias/sistema%20teste%20de%20allium%20cepa.pdf>
- Poletto, P. D. O., Diniz, A. P., Bernardon, B., Zan, R. A., Ramos, L. J., & de Oliveira Meneguetti, D. U. (2011). Análise da mutagenicidade do extrato hidrossolúvel de *Derris rariflora* (mart. ex benth. jf macbr: fabaceae), timbó amazônico, através do teste micronúcleo em *allium cepa*. *Revista Pesquisa & Criação*, 10 (1), 163-176. https://www.researchgate.net/profile/Dionatas-Meneguetti/publication/258848751_Analise_da_mutagenicidade_do_extrato_hidrossolovel_de_Derris_rariflora_mart_ex_benth_jf_macbr_fabaceae_timbo_a_mazonico_atraves_do_teste_micronucleo_em_allium_cepa/Analysis_of_mutagenicity_hydrossoluble/links/00b495298e16d32d3a000000/Analise-da-mutagenicidade-do-extrato-hidrossolovel-de-Derris-rariflora-mart-ex-benth-jf-macbr-fabaceae-timbo-amazonico-atraves-do-teste-micronucleo-em-allium-cepa-Analysis-of-mutagenicity-hydrossolu.pdf
- Rocha, A. R. S., Sousa, H. G., do Vale Júnior, E. P., de Lima, F. L., Costa, A.S., de Araújo, A.R., & Lago, E.C., (2021). Extratos e frações de espécies de *Croton* L. (Euphorbiaceae) com atividade antimicrobiana e potencial antioxidante. *LWT*, 139, 110521. 10.1016/j.lwt.2020.110521.
- Salatino, A., Salatino, M. L. F., & Negri, G. (2007). Usos tradicionais, química e farmacologia de espécies de *Croton* (Euphorbiaceae). *Revista da Sociedade Brasileira de Química*, 18 (1), 11-33. doi:10.1590/S0103-50532007000100002
- Sanches, I. B., Schoffen, J. P. F., Seiva, F. R., Tashima, C. M., Silva, R. M. G., & da Rosa, C. V. D. (2020). Procedimento Operacional Padrão como estratégia para avaliação toxicológica e registro de Plantas Medicinais. *Brazilian Journal of Development*, 6(8), 62280-62292. 10.34117/bjdv6n8-598
- Santos, G. K., Dutra, K. A., Lira, C. S., Lima, B. N., Napoleão, T. H., Paiva, P. M., ... & Navarro, D. M. (2014). Efeitos do óleo essencial de *Croton rhamnifolioides* na oviposição de *Aedes aegypti*, toxicidade larval e atividade de tripsina. *Molecules*, 19 (10), 16573-16587. doi:10.3390/molecules191016573
- Santos, P. N., do Nascimento Paz, F. A., dos Santos, E. N., Batista, N. J. C., de Carvalho, T. M., & da Costa, C. L. S. (2020). Análise do potencial citotóxico, genotóxico e mutagênico do extrato hidroalcoólico das folhas da *Morus nigra* L. Através do bioensaio *Allium cepa*. *Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento*, 9 (4), e132942968-e132942968. doi:10.33448/rsd-v9i4.2968
- Secco, R. D. S., Cordeiro, I., Senna-Vale, L. D., Sales, M. F. D., Lima, L. R. D., Medeiros, D., & Bigio, N. C. (2012). Uma visão geral dos estudos taxonômicos recentes sobre Euphorbiaceae sl no Brasil. *Rodriguésia*, 63 (1), 227-242. 10.1590/S2175-78602012000100014
- Silva, V. E. S. D., Silva Rocha, A. R. F. D., Fernandes, V. M. P., da Conceição, H. N., & Lago, E. C. (2020). Potencial larvicida do gênero *Croton* L. (Euphorbiaceae) no controle biológico de *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 42, e52755-e52755. doi:10.4025/actasciabiolsci.v42i1.52755
- Souza, L. B. D., Gindri, A. L., Fortes, T. D. A., Enderle, J., Roehrs, R., Manfredini, V., & Denardin, E. L. G. (2021). *Chaptalia nutans* Polak: Extrato de raiz tem alta atividade antioxidante in vitro e baixa citotoxicidade in vivo. *Journal of Medicinal Food*, 24 (2), 161-171. 10.1089/jmf.2019.0309

Tedesco, M., Kuhn, A. W., Boligon, A. A., Laughinghouse I. V., A. M., Silva, A. C. F., & Tedesco, S. B. (2015). Análise cromatográfica, efeito antiproliferativo e genotoxicidade de extratos aquosos de *Citrus sinensis* (L.) Osbeck no sistema teste *Allium cepa* L. *Biosci J*, 31, 1213-1221. <https://seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/23245/16745>

Uchôa, V. T., Sousa, C. M. M., Carvalho, A. A., Sant'Ana, A. E. G., & Chaves, M. H. (2016). Capacidade de eliminação de radicais livres de extratos de casca e folhas do caule de *Ximenia americana* L. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 6 (2), 91-96. 10.7324/JAPS.2016.60213

Ventura-Camargo, B. C., Marin-Morales, M. A., & Desk, S. (2016). Micronúcleos e aberrações cromossômicas derivadas da ação do herbicida Atrazina em células meristemáticas de *Allium cepa*. *SDRP Jornal de Ciências da Terra e Estudos Ambientais*, 1 (1). 10.4172/2161-0525.1000109

Verri, A., Moura, A., & De Moura, V. (2017). Testes citogenéticos na avaliação da genotoxicidade de produtos naturais provindos de plantas medicinais. *Uningá Review Journal*, 30(1). <http://revista.uninga.br/index.php/uningareviews/article/view/1997>