

Silva, RCMO, Cunha, SMD, Medeiros, CIS, Anjos, RM, Oliveira, HMBF, Sousa, AP, Teles, YCF & Oliveira Filho, AA (2020). Genotoxic potential of the metholic extract of *Psidium guineense* sw (araçá verdadeiro) in oral mucosa cells. *Research, Society and Development*, 9(7): 1-10, e214973814.

**Potencial Genotóxico do Extrato Metanólico de *Psidium guineense* Sw (Araçá verdadeiro)
em Células da Mucosa Oral**

**Genotoxic Potential of the Metholic Extract of *Psidium guineense* Sw (Araçá verdadeiro)
in Oral Mucosa Cells**

**Potencial Genotóxico del Extracto Metólico de *Psidium guineense* Sw (Araçá verdadeiro)
en Células Orales de Mucosa**

Recebido: 21/04/2020 | Revisado: 02/05/2020 | Aceito: 03/05/2020 | Publicado: 05/05/2020

Rebeca Cícera Mendes de Oliveira Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2891-9209>

Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Brasil

E-mail: rebeaodonto21@gmail.com

Saraghina Maria Donato da Cunha

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3015-6175>

Universidade Federal da Paraíba (UFPB), Brasil.

E-mail: saracunha20@hotmail.com

Cássio Ilan Soares Medeiros

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6413-8303>

Universidade Federal da Paraíba (UFPB), Brasil.

E-mail: cassioism@hotmail.com

Raline Mendonça dos Anjos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0751-7523>

Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Brasil

E-mail: raline.anjos@gmail.com

Heloisa Mara Batista Fernandes de Oliveira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8237-9920>

Hospital Universitário Ana Bezerra (UFRN), Brasil

E-mail: Heloisambf@gmail.com

Aleson Pereira de Sousa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3430-477X>

Universidade Federal da Paraíba (UFPB), Brasil

E-mail: aleson_155@hotmail.com

Yanna Carolina Ferreira Teles

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9409-3727>

Universidade Federal da Paraíba (UFPB), Brasil.

E-mail: yannateles@gmail.com

Abrahão Alves de Oliveira Filho

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7466-9933>

Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Brasil

E-mail: abrahao.farm@gmail.com

Resumo

O presente estudo busca realizar a análise do potencial genotóxico do extrato metanólico da planta *Psidium (P.) guineense Sw*, popularmente conhecido como ‘*Araçá Verdadeiro*’, frente a células da cavidade oral. As células de mucosa oral dos doadores foram expostas *ex-vivo* ao extrato metanólico de *Psidium guineense* em concentrações (50, 100, 500 e 1000 µg/mL) por 30 minutos, houve a confecção de esfregaço do pellet de células e posterior fixação em lâminas coradas com Giemsa 2%. A análise foi feita com o uso de microscópio óptico, todo o experimento realizado em triplicata. Os dados revelam que mesmo em altas concentrações (500 e 1000 µg/mL) do extrato metanólico de *P. guineense Sw*, a toxicidade celular é considerada baixa com porcentagem de células normais (94,5% a 94%) compatíveis com o controle negativo. Logo, o extrato metanólico, pertencente a espécie *P. guineense Sw*, possui o potencial bioativo que pode ser explorado através de possível aplicação deste composto como fitoterápico, entretanto mais estudos devem ser realizados para melhor compreender o perfil de toxicidade deste produto.

Palavras-chave: Fitoterapia; *In vitro*; *Psidium*; Genotoxicidade; Planta.

Abstract

The present research seeks to perform the analysis of the genotoxic potential of the methanolic extract of the plant *Psidium (P.) guineense Sw*, popularly known as ‘*Araçá Verdadeiro*’, against cells in the oral cavity. The donor's oral mucosa cells were exposed *ex vivo* to the methanolic extract of *P. guineense* in concentrations (50, 100, 500 and 1000 µg/mL) for 30 minutes, the cell pellet smear was made and subsequent fixation on slides stained with 2% Giemsa. The analysis was done using an optical microscope, the whole

experiment carried out in triplicate. The data reveal that even at high concentrations (500 and 1000 µg/mL) of the methanolic extract of *P. guineense Sw.* Cell toxicity is considered low with a percentage of normal cells (94.5% to 94%) compatible with the negative control. Therefore, the methanolic extract, belonging to the species *P. guineense Sw.* has the bioactive potential that can be explored through the possible application of this compound as a phytotherapeutic, however more studies must be performed to better understand the toxicity profile of this product.

Keywords: Phytotherapy; *In vitro*; *Psidium*; Genotoxicity; Plant.

Resumen

El presente estudio busca analizar el potencial genotóxico del extracto metanólico de la planta *Psidium (P.) guineense Sw.*, conocido popularmente como "Araçá Verdadeiro", frente a las células en la cavidad oral. Las células de la mucosa oral del donante se expusieron *ex vivo* al extracto metanólico de *P. guineense Sw.* en concentraciones (50, 100, 500 y 1000 µg/mL) durante 30 minutos, se realizó el frotis de pellets de células y posterior fijación en portaobjetos. teñido con 2% de Giemsa. El análisis se realizó con un microscopio óptico, todo el experimento se realizó por triplicado. Los datos revelan que incluso a altas concentraciones (500 y 1000 µg/mL) del extracto metanólico de *P. guineense Sw.* La toxicidad celular se considera baja con un porcentaje de células normales (94.5% a 94%) compatible con el control negativo. Por lo tanto, el extracto metanólico, perteneciente a la especie *P. guineense Sw.* Tiene el potencial bioactivo que puede explorarse mediante la posible aplicación de este compuesto como fitoterapia, sin embargo, se deben realizar más estudios para comprender mejor el perfil de toxicidad de este producto.

Palabras clave: Fitoterapia; *In vitro*; *Psidium*; Genotoxicidad; Planta.

1. Introdução

O uso das propriedades farmacológicas das plantas e vegetais são costumes tradicionais antigos, antigamente a cura por meio dos produtos naturais passava por gerações, onde estas espécies de plantas adquiriam utilidade e valor nos mais variados processos terapêuticos (Souza, 2015).

Apesar da evolução de substâncias com origem sintética, os medicamentos advindos de plantas naturais são equivalentes a 25% indicações terapêuticas no mundo. Várias são as causas que motivam a procura por produtos naturais, tais como: elevado custo de

medicamentos sintéticos; má distribuição dos fármacos; maior eficácia das drogas naturais contra o câncer. Contudo, a utilização incorreta dos medicamentos naturais, também podem causar problemas de saúde. Conceitos pré-concebidos que produtos naturais não causam efeitos colaterais e podem ser utilizados indiscriminadamente, podem levar a superdosagem e causar problemas de toxicidade para os pacientes (Carvalho, 2006).

Após comprovado que o vegetal possui propriedades terapêuticas, são iniciados os experimentos *in vitro* com a planta para analisar seu potencial bioativo, além das características importantes como a farmacocinética e farmacodinâmica em seres vivos, sendo essa segunda etapa nomeada de pré-clínica, e ainda não envolve testes em seres humanos. A terceira fase desses estudos consiste em proceder com os estudos clínicos em seres humanos, dividindo-se essa etapa em três fases: I, II, III e IV (Nasciutti, 2012).

O *Psidium guineense* Swartz (Myrtaceae) é uma planta nativa da região tropical das Américas, no Brasil encontra-se distribuída em regiões do litoral; esta espécie possui sinônimo botânico *Psidium araca Raddi* (Sobral et al., 2015) conhecida como *Araçá*. Apesar de haver poucos descritos sobre perfil fitoquímico e potencial farmacológico, esta espécie tem uso na medicina popular no tratamento de infecções do trato gastrointestinal e geniturinário (Caldeira et al., 2004).

Estudos preliminares revelaram a presença de substâncias flavonóides e taninos nos frutos e folhas de *P. guineense*, tais compostos possuem eficácia contra cepas de *Streptococcus mutans* (González; González & Pinto, 2005). Em recente pesquisa desenvolvida por Fernandes et al (2012), o extrato aquoso de *P. guineense* associado a (β -lactâmicos, fluoroquinolonas e carbapenêmicos), tem ação sinérgica ao inibir cepas de *Staphylococcus aureus* resistente à metecilina.

A avaliação da toxicidade em compostos é fundamental para segurança em sua utilização. Estudos sobre os efeitos genotóxicos contribuem para determinação de toxicidade de produtos com potencial farmacológico, averiguando a capacidade de um composto em lesar o material genético humano (DNA), sendo que quando constatado esse potencial, a substância torna-se inutilizável, devendo-se avaliar sua capacidade de induzir a mutação celular ou câncer (Alborghetti; Casanova & De Oliveira, 2015).

Diante do exposto o presente estudo busca analisar o potencial genotóxico do extrato metanólico da planta *Psidium (P.) guineense* Sw, popularmente conhecido como *Araçá Verdadeiro*, frente a células da cavidade oral.

2. Metodologia

A pesquisa laboratorial acontece sob condições controladas como afirma Pereira et al. (2018). Neste estudo realiza-se uma pesquisa laboratorial com emprego de material vegetal.

Material Vegetal

Para o ensaio, foi utilizado o extrato metanólico das folhas de *P. guineense*, cedidos pela equipe da Prof^a. Dr^a. Yanna Teles, do Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos (IPEFarM) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB). O extrato foi preservado em frasco âmbar e mantido em condições de refrigeração. Houve a diluição da amostra em diferentes concentrações (50, 100, 500 e 1000 µg/mL) para realização do teste de genotoxicidade.

Avaliação dos efeitos genotóxicos em células de mucosa oral

As células da cavidade oral foram recolhidas na região das bochechas, através de escova cytobrush (Luz et al., 2012), em seguida as células obtidas são colocadas em meio a 5 mL de solução salina (0,9% de NaCl) e lavadas duas vezes sob centrifugação de 1.500 rpm por 10 min, seguido de remoção do sobrenadante para retirar os detritos da coleta. A exposição ex-vivo do extrato metanólico de *P. guineense* ocorreu nas concentrações (50, 100, 500 e 1000 µg/mL) por 30 minutos (Kassie et al., 2001).

O esfregaço foi preparado a partir do pellet de células, foram homogeneizadas no vórtex e colocadas sobre as lâminas deixadas em temperatura ambiente para a secagem durante 15 minutos. A fixação foi feita com metanol: ácido acético (3:1) por 15 min (Cerqueira et al., 2004; Thomas et al., 2008). Após a fixação, as lâminas foram coradas utilizando Giemsa a 2% (Gabriel et al., 2006). A observação das células foi feita com o uso de microscópio óptico. Cerca de 1000 células serão observadas por lâmina (Tolbert et al., 1991).

Aspectos éticos

Os ensaios foram realizados segundo o Código de Ética da Associação Médica Mundial e após a aprovação pelo o comitê de ética da Fundação Francisco Mascarenhas/Faculdades Integradas de Patos (Número do Parecer: 2.373.249). As amostras

de células de mucosa oral foram doadas a partir de jovens adultos saudáveis. A população amostral foi constituída de alunos da Universidade Federal de Campina Grande (campus Patos - PB) dos cursos de Ciências Biológicas e Odontologia, participantes ativos da Liga Acadêmica de Fitoterapia, Bioquímica e Microbiologia coordenada pelo Professor Dr. Abrahão Alves De Oliveira Filho.

3. Resultados e Discussão

Com a realização do presente estudo foi possível observar o surgimento de alterações celulares compatíveis com danos tóxicos, no entanto, estes achados estiveram mais presentes nos grupos expostos a solução de peróxido de hidrogênio (controle positivo). O grupo exposto as diferentes concentrações do extrato metanólico de *P. guineense* Sw. induziu poucas alterações celulares, em comparação com o controle positivo, apresentando resultados, após uma análise qualitativa, próximos aos do grupo controle negativo, visto na Tabela 1.

Tabela 1- Resultados do potencial genotóxico dos extratos de *P. guineense* Sw sobre células da mucosa oral.

Grupo	Cariólise	Cariorrexe	Micronúcleo	Binucleação	Normal	Total
Controle Negativo	1,5%	2%	2,75%	0,25%	93,5%	100%
Controle positivo (H ₂ O ₂)	4%	10.75%	6,5%	1%	76,5%	100%
Extrato Metanólico (EM)						
1000 µg/mL	2,5%	2%	1,5%	0%	94%	100%
500 µg/mL	1%	1,5%	2,5%	0,5%	94,5%	100%
100 µg/mL	0%	2%	1%	0%	97%	100%
50 µg/mL	1,5%	3%	2,5%	1%	92%	100%

Fonte: próprio autor, 2020

Os dados revelam que mesmo em altas concentrações (500 e 1000 µg/mL) do extrato metanólico de *P. guineense* Sw. a toxicidade celular é considerada baixa com porcentagem de células normais (94,5% a 94%) compatíveis com o controle negativo.

Estudo realizado por Paulo et al (2009) foi avaliado o efeito tóxico de espécies da família Myrtaceae, um medicamento fitoterápico que possui em sua composição a *Eucalyptus globulus* Labill. Após a ingestão do produto pelos voluntários não houve alterações

significativas em exames clínicos e laboratoriais, assim como também não apresentou reações adversas relevantes para a pausa da pesquisa.

A determinação da atividade antinociceptiva em camundongos induzida por óleo essencial de *Myrcia Rostrata Dc.*, espécie pertencente à família Myrtaceae, não apresentou letalidade, nem indícios de toxicidade animal, também não houve perda de peso (Silva et al., 2018).

Tais estudos corroboram com os dados encontrados na avaliação do potencial de genotoxicidade do extrato metanólico de *P. guineense Sw.*, onde poucas alterações foram evidenciadas na análise sugerindo um baixo nível de citotoxicidade para o composto em estudo.

O estudo toxicológico *in vivo* utilizando camundongos no ensaio pré-clínico (agudo), avaliou a toxicidade do extrato do *Syzygium aromaticum (L)*, espécie pertencente a família Myrtaceae que popularmente é conhecida como ‘*cravo-da-índia*’. Através deste produto natural há extração do eugenol que é amplamente utilizado na odontologia, entretanto observou-se que o extrato do cravo-da-índia apresentou toxicidade em doses mais elevadas e com maior tempo de exposição (Valente et al., 2009). Sendo assim é importante levar em consideração aspectos como dose, tempo e frequência do uso e a maneira que ele é administrado no paciente.

4. Considerações Finais

Diante do exposto através dos resultados obtidos nesta pesquisa observa-se que, o extrato metanólico, pertencente a espécie *P. guineense Sw.* induz baixa genotoxicidade em células da mucosa oral.

O seu potencial bioativo pode ser explorado através de possível aplicação deste composto como fitoterápico, no entanto, mais estudos devem ser realizados para comprovar a baixa toxicidade referente a produtos isolados da espécie *P. guineense*.

Referências

Alborghetti, G, Casanova, M, & Oliveira, T. (2015). Evaluación de la genotoxicidad inducida por la administración repetida de anestésicos locales: Un estudio experimental en ratones. *Rev Bras Anesthesiol*, 65(1), 21-26.

Caldeira, SD, Hiane, PA, Ramos, MIL, & Ramos Filho, MM. (2004). Caracterização físico-química do araçá (*Psidium guineense* Sw.) e do tarumã (*Vitex cymosa* Bert.) do estado de Mato Grosso do Sul. *Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, 22(1).

Carvalho, JD. (2006). Atividade antiulcerogênica e anticâncer de produtos naturais e de síntese. *Rev Multic*, 7, 1-18.

Cerqueira, EMM, Gomes-Filho, IS, Trindade, S, Lopes, MA, Passos, JS & Machado-Santelli, GM (2004). Danos genéticos em células esfoliadas da mucosa oral de indivíduos expostos a raios-X durante radiografias odontológicas panorâmicas. *Pesquisa de mutação / toxicologia genética e mutagênese ambiental* , 562(1-2), 111-117.

Fernandes, TG, Mesquita, ARC, Randau, KP, Franchitti, AA, & Ximenes, EA. (2012). In vitro synergistic effect of *Psidium guineense* (Swartz) in combination with antimicrobial agents against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. *The Scientific World Journal*, 2012.

Gabriel, HE, Crott, JW, Ghandour, H., Dallal, GE, Choi, SW, Keyes, MK, ... & Mager, D. (2006). O tabagismo crônico está associado à diminuição do estado folato, alteração na distribuição da forma folato e aumento do dano genético na mucosa bucal de adultos saudáveis. *O jornal americano de nutrição clínica* , 83(4), 835-841.

Neira González, AM, Ramírez González, MB, & Sánchez Pinto, NL. (2005). Estudio fitoquímico y actividad antibacterial de *Psidium guineense* Sw (choba) frente a *Streptococcus mutans*, agente causal de caries dentales. *Revista cubana de plantas medicinales*, 10(3-4), 0-0.

Kassie, F, Darroudi, F, Kundi, M, Schulte-Hermann, R, & Knasmüller, S. (2001). Khat (*Catha edulis*) consumption causes genotoxic effects in humans. *International journal of cancer*, 92(3), 329-332.

Luz, EB, Silva, RPD, Reis, TA, Leite, ADS, & Lima, MMDO. (2012, August). Avaliação da resposta do chá branco (*Camellia sinensis*) industrializado frente aos testes *Allium cepa* e micronúcleo ex-vivo em mucosa oral. In *VII CONNEPI-Congresso Norte Nordeste de Pesquisa e Inovação*.

Nasciutti,PR. (2012). Desenvolvimento de novos fármacos. Disponível em:
<http://ppgca.evz.ufg.br/up/67/o/1%C2%B0_Semin%C3%A1rio_PRISCILLA_NASCIUTTI.pdf?1350665635>. Acesso em: 17 mar. 2020.

Paulo, PTC, Diniz, MDF, Medeiros, IAD, Morais, LC, Andrade, FBD, & Santos, HB. (2009). Ensaio clínico toxicológico, fase I, de um fitoterápico composto (*Schinus terebinthifolius* Raddi, *Plectranthus amboinicus* Lour e *Eucalyptus globulus* Labill). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 19(1A), 68-76.

Pereira, A.S. et al. (2018). *Metodologia da pesquisa científica*. [e-book]. Santa Maria. Ed. UAB/NTE/UFSM. Acesso em: 2 maio 2020. Disponível em:
https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic_Computacao_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf?sequence=1.

Silva, ADN, Bomfim, HF, Magalhães, AO, Rocha, MLD, & Lucchese, AM. (2018). Composição química e atividade antinociceptiva em modelo animal do óleo essencial de *Myrcia rostrata* DC.(MYRTACEAE). *Química Nova*, 41(9), 982-988.

Sobral, M, Proença, C, Souza, M, Mazine, F, & Lucas, E. (2015). *Myrtaceae in lista de espécies da flora do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro.

Souza, LJD. (2015). *A investigação do conhecimento e uso de plantas medicinais na região do Distrito Prata*, município de Monte Alegre de Goiás-GO.

Thomas, P, Harvey, S, Gruner, T, & Fenech, M. (2008). The buccal cytome and micronucleus frequency is substantially altered in Down's syndrome and normal ageing compared to young healthy controls. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 638(1-2), 37-47.

Tolbert, PE., Shy, CM., & Allen, JW. (1991). Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: a field test in snuff users. *American Journal of Epidemiology*, 134(8), 840-850.

Valente, RO., Sampaio, FC., Souza, IA., & Higinio, JS. (2009). Estudo toxicológico pré-clínico (agudo) do extrato do *Syzygium aromaticum* (L) em roedores. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 19(2B), 557-560.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Rebeca Cícera Mendes de Oliveira Silva – 20%

Saraghina Maria Donato da Cunha – 10%

Cássio Ilan Soares Medeiros– 10%

Raline Mendonça dos Anjos – 10%

Heloisa Mara Batista Fernandes de Oliveira – 10%

Aleson Pereira de Sousa – 15%

Yanna Carolina Ferreira Teles – 10%

Abrahão Alves de Oliveira Filho – 15%