Avaliação da genotoxicidade de extratos de Agave americana e *Turnera ulmifolia* por meio do ensaio cometa

Evaluation of the genotoxicity of Agave americana and Turnera ulmifolia extracts using the comet assay

Edislane Barreiros de souza [(1)]
Laise Carvalho Silva Campos[(2)]
Rafaela Choi Peng So[(3)]
Cauan Pércio Duarte[(4)]
Izabela Teixeira[(5)]
Julia Amanda Rodrigues Fracasso[(6)]
Eduarda Aparecida Pereira Pelegrini[(7)]

Resumo

Embora muitas plantas medicinais ofereçam benefícios terapêuticos, algumas possuem compostos com potencial genotóxico, o que representa um risco para a saúde. A *Turnera ulmifolia* é uma planta exótica, muito utilizada no tratamento de diferentes enfermidades, principalmente pelas suas propriedades farmacológicas, como anti-inflamatória, enquanto a *Agave americana,* uma planta ornamental, de ocorrência global, tem propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes, antibacteriana e antifúngica. Os compostos bioativos responsáveis pelas propriedades farmacológicas e terapêuticas, incluem flavonoides, alcaloides, taninos, esteroides, fenol, saponinas, terpenos e triterpenos. Para avaliar o potencial genotóxico de extratos de folhas de *Turnera ulmifolia* (Extrato Hidroalcoólico) e, de *Agave americana* (Extrato da Hidrólise ácida) utilizou-se o método Ensaio Cometa, em cultura de células de linfócitos, verificando possíveis danos à molécula de DNA. Os resultados apontaram um caráter genotóxico destes extratos nas concentrações de 50 e 100 µg/mL para a molécula de DNA. A interação destes compostos bioativos com o DNA, causam quebras de fita entre outros danos no genoma, podendo levar a mutações genéticas**,** câncer ou até alterações hereditárias em organismos expostos.

Palavras-chave: Bioatividade. Fitoterapia. Mutações. Toxicologia.

Abstract

Although many medicinal plants offer therapeutic benefits, some contain compounds with genotoxic potential, representing a risk to human health. Turnera ulmifolia is an exotic plant widely used in the treatment of various diseases, mainly due to its pharmacological properties, especially its anti-inflammatory activity. Meanwhile, Agave americana, an ornamental plant with worldwide distribution, presents anti-inflammatory, antioxidant, antibacterial, and antifungal properties. The bioactive compounds responsible for these pharmacological and therapeutic effects include flavonoids, alkaloids, tannins, steroids, phenols, saponins, terpenes, and triterpenes. To evaluate the genotoxic potential of leaf extracts from Turnera ulmifolia (EHAT – Hydroalcoholic Extract) and Agave americana (EHAA – Acid Hydrolysis Extract), the Comet Assay method was applied in lymphocyte cell cultures to investigate possible damage to the DNA molecule. The results demonstrated a genotoxic effect of these extracts at concentrations of 50 and 100 µg/mL on DNA. The interaction of these bioactive compounds with DNA may induce strand breaks and other genomic damage, potentially leading to genetic mutations, cancer, or even hereditary alterations in exposed organisms.

Keywords: Bioactivity. Phytotherapy. Mutations. Toxicology.

[1]Professora Doutora em Ciências Biológicas. Departamento de Biotecnologia aplicada à Genética pela Unesp/FCL Assis.[2] Graduada em Ciências Biológicas pela Unesp/FCL Assis; [3] Graduada em Ciências Biológicas pela Unesp/FCL Assis.[4] Mestrando em Endocrinologia e Metabologia pela UNIFESP. [5] Graduada em Ciências Biológicas pela Unesp/FCL Assis.[6] Doutoranda em Ciências pela Unesp/FOA. [7]Graduanda em Ciências Biológicas pela Unesp/FCL Assis.

1. Introdução

O uso de plantas medicinais é amplamente difundido devido às suas propriedades terapêuticas e farmacológicas (VEIGA-JUNIOR; PINTO; MACIEL, 2005). Muitas espécies vegetais apresentam compostos bioativos com atividades anti-inflamatória, antioxidante e antimicrobiana (CHATTERJEE, 2015). Entretanto, algumas plantas podem apresentar potencial genotóxico, promovendo danos ao DNA celular (ARALDI; MELO; MENDES; SÁ-JUNIOR; NOZIMA; ITO, 2015).

Entre as espécies vegetais de interesse farmacológico destacam-se *Turnera ulmifolia*, com propriedades anti-inflamatórias (ANTONIO; SOUZA-BRITO, 1998), e *Agave americana*, associada a atividades antioxidante, antifúngica e anti-inflamatória (LÓPEZ-ROMERO; AYALA-ZAVALA; AGUILAR-GONZÁLEZ; RAMOS-PEÑA; RIOS-GONZÁLEZ, 2018). Diante disso, o presente estudo teve como objetivo avaliar o potencial genotóxico de extratos de *Turnera ulmifolia* e *Agave americana* por meio do Ensaio Cometa em culturas de linfócitos.

2. Materiais e Métodos

O extrato hidroalcoólico de *Turnera ulmifolia* (EHT) foi obtido por percolação das folhas em solução hidroalcoólica (etanol:água, 70:30), seguida de filtração e concentração. O extrato da hidrólise ácida de *Agave americana* (EHAa) foi produzido a partir do suco das folhas, submetido à hidrólise ácida com ácido sulfúrico, seguida de separação da fração orgânica e secagem.

Foram utilizadas amostras de sangue periférico de dez voluntários de ambos os sexos, previamente aprovadas pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CAAE nº 17837919.3.0000.5401). Os linfócitos foram expostos aos extratos nas concentrações de 50 e 100 µg/mL. Como controle negativo foram utilizadas células sem tratamento e, como controle positivo, células tratadas com ciclofosfamida (50 µg/mL).

A avaliação dos danos ao DNA foi realizada pelo Ensaio Cometa em condição alcalina. Inicialmente, 15 µL da suspensão celular foram misturados a 75 µL de agarose de baixo ponto de fusão e distribuídos sobre lâminas. Após solidificação, as lâminas foram submetidas à lise celular por 1 hora para remoção das membranas e proteínas celulares, expondo o DNA. Em seguida, realizou-se a eletroforese em tampão alcalino (pH 13) a 0,7 V/cm e 300 mA durante 25 minutos, permitindo a migração dos fragmentos de DNA danificados.

Posteriormente, as lâminas foram neutralizadas, fixadas e coradas com brometo de etídio. A análise foi realizada em microscópio de fluorescência com aumento de 400×. Foram avaliadas 400 células por tratamento, classificadas em cinco categorias de dano (0 a 4), de acordo com o tamanho da cauda formada pela migração do DNA. Os resultados foram submetidos à análise estatística por ANOVA seguida do teste de Kruskal-Wallis, adotando-se

nível de significância de 1%.

3. Resultados e Discussão

Os resultados do Ensaio Cometa demonstraram elevada frequência de danos ao DNA em células tratadas com os extratos de *Turnera ulmifolia* e *Agave americana* (Tabela 1). Os tratamentos com *Turnera ulmifolia* apresentaram scores próximos ao controle positivo, indicando potencial genotóxico, enquanto *Agave americana* apresentou efeito dependente da dose, com maiores danos em 100 µg/mL.

Os efeitos observados podem estar relacionados à presença de flavonoides, compostos fenólicos e saponinas esteroidais (LÓPEZ-ROMERO; AYALA-ZAVALA; AGUILAR-GONZÁLEZ; RAMOS-PEÑA; RIOS-GONZÁLEZ, 2018), que podem promover danos ao DNA em concentrações elevadas (SHAW; LEON; KOLEV; MURRAY, 1997). Dessa forma, os resultados reforçam a importância da avaliação toxicológica de espécies vegetais utilizadas na medicina tradicional.

TABELA 1 - Comparação estatística dos *scores* obtidos

Indivíduos	**Tratamentos**					
	C^+	C^-	EHT50	EHT100	EHAa50	EHAa100
1	363[a]	36[b]	371[a]	381[a]	223[c]	397[a]
2	324[a]	47[b]	332[a]	364[a]	245[c]	347[a]
3	334[a]	50[b]	369[a]	390[a]	212[c]	307[a]
4	340[a]	45[b]	358[a]	385[a]	209[c]	302[a]
5	371[a]	44[b]	324[a]	347[a]	261[c]	309[a]
6	348[a]	34[b]	343[a]	363[a]	238[c]	305[a]
7	325[a]	50[b]	337[a]	329[a]	250[c]	361[a]
8	341[a]	40[b]	332[a]	345[a]	232[c]	325[a]
9	332[a]	54[b]	298[a]	330[a]	254[c]	343[a]
10	336[a]	56[b]	376[a]	397[a]	239[c]	316[a]

LEGENDA - A tabela apresenta os *scores* de danos ao DNA obtidos pelo Ensaio Cometa em linfócitos humanos de dez indivíduos submetidos aos controles positivo (C+) e negativo (C−) e aos tratamentos com os extratos hidroalcoólico de *Turnera ulmifolia* (EHT50 e EHT100) e de hidrólise ácida de *Agave americana* (EHAa50 e EHAa100). Letras distintas na mesma linha indicam diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos ($p < 0,01$).

4. Conclusão

Os extratos de *Turnera ulmifolia* e *Agave americana* apresentaram potencial genotóxico em linfócitos humanos avaliados pelo Ensaio Cometa, especialmente em concentrações mais elevadas. Os resultados demonstram a importância da realização de estudos toxicológicos para

avaliação da segurança de plantas medicinais, considerando que compostos bioativos podem apresentar efeitos dependentes da dose. Novas pesquisas, incluindo análises in vitro e in vivo, são necessárias para melhor compreensão dos mecanismos de ação e do potencial farmacológico e toxicológico dessas espécies vegetais.

5. Referências

ANTONIO, M. A.; SOUZA-BRITO, A. R. M. Oral anti-inflammatory and anti-ulcerogenic activities of a hydroalcoholic extract and partitioned fractions of *Turnera ulmifolia* (Turneraceae). *Journal of Ethnopharmacology*, v. 61, n. 3, p. 215-228, 1998.

ARALDI, R. P.; MELO, T. C.; MENDES, T. B.; SÁ-JUNIOR, P.; NOZIMA, B. N.; ITO, E. T. The comet and micronucleus assays for genotoxicity studies: A review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 72, p. 74-82, 2015.

CHATTERJEE, S. S. From covalent bonds to eco-physiological pharmacology of secondary plant metabolites. *Biochemical Pharmacology*, v. 98, n. 2, p. 269-277, 2015.

LÓPEZ-ROMERO, J. C.; AYALA-ZAVALA, J. F.; AGUILAR-GONZÁLEZ, G. A.; RAMOS-PEÑA, E.; RIOS-GONZÁLEZ, H. Biological activities of Agave by-products and their possible applications in food and pharmaceuticals. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 98, n. 7, p. 2461-2474, 2018.

SHAW, D.; LEON, C.; KOLEV, S.; MURRAY, V. Traditional remedies and food supplements: a 5-year toxicological study (1991-1995). *Drug Safety*, v. 17, n. 5, p. 342-356, 1997.

TICE, R. R.; AGURELL, E.; ANDERSON, D.; BURLINSON, B.; HARTMANN, A.; KOBAYASHI, H. Single cell gel/comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, v. 35, n. 3, p. 206-221, 2000.

VEIGA-JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura? *Química Nova*, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. Plataforma Brasil. Brasília, DF, 2025.