

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
CAMPUS GOVERNADOR VALADARES
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA VIDA

João Lucas Lopes Moreira

Genotoxicidade do extrato etanólico de *Xylosma prockia* (Salicaceae) avaliada
por ensaio do cometa em células RAW 264.7

Governador Valadares
2025

João Lucas Lopes Moreira

Genotoxicidade do extrato etanólico de *Xylosma prockia* (Salicaceae) avaliada
por ensaio do cometa em células RAW 264.7

Trabalho de conclusão de curso
apresentado ao curso de Farmácia da
Universidade Federal de Juiz de Fora
Campus Governador Valadares,
como requisito parcial à obtenção do
grau de bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Meneghin Mendonça

Governador Valadares

2025

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Moreira, João Lucas Lopes.

Genotoxicidade do extrato etanólico de *Xylosma prockia* (Salicaceae) avaliada por ensaio do cometa em células RAW 264.7 / João Lucas Lopes Moreira. -- 2025.

26 f.

Orientador: Leonardo Meneghin Mendonça
Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Campus Avançado de Governador Valadares, Instituto de Ciências da Vida - ICV, 2025.

1. *Xylosma prockia*. 2. Genotoxicidade. 3. Ensaio do cometa. 4. Avaliação de toxicidade. I. Mendonça, Leonardo Meneghin , orient. II. Título.

João Lucas Lopes Moreira

Genotoxicidade do extrato etanólico de *Xylosma prockia* (Salicaceae) avaliada
por ensaio do cometa em células RAW 264.7

Trabalho de conclusão de curso
apresentado ao curso de Farmácia da
Universidade Federal de Juiz de Fora
Campus Governador Valadares,
como requisito parcial à obtenção do
grau de bacharel em Farmácia.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Leonardo Meneghin Mendonça
Universidade Federal de Juiz de Fora - Campus Governador Valadares

Profa. Dra. Andréia Peraro Nascimento
Universidade Federal de Juiz de Fora - Campus Governador Valadares

Profa. Dra. Carla da Silva Machado
Universidade Vale do Rio Doce

Sumário

Introdução.....	9
Material e métodos.....	11
Material botânico	11
Obtenção do extrato vegetal.....	11
Condições das culturas de células	11
Ensaio cometa alcalino	13
Análise estatística.....	13
Resultados e Discussão	14
Conclusão	19
Referências	19

Genotoxicidade do extrato etanólico de *Xylosma prockia* (Salicaceae) avaliada por ensaio do cometa em células RAW 264.7

Genotoxicity of the ethanolic extract of *Xylosma prockia* (Salicaceae) evaluated by comet assay in RAW 264.7 cells

Moreira, João Lucas Lopes¹; Salvador, Maiara Rodrigues¹; Lang, Karen Luise¹; Mendonça, Leonardo Meneghin^{1*}

¹Universidade Federal de Juiz de fora, Campus Governador Valadares, Instituto de Ciências da Vida, Departamento de Farmácia.

***Autor correspondente:** Leonardo Meneghin Mendonça. ORCID: 0000-0001-7351-6356. Universidade Federal de Juiz de Fora, Campus Governador Valadares. R. Manoel Byrra, 241 - Vila Bretas, Gov. Valadares - MG, CEP 35032-620.

E-mail: leonardo.mendonca@ufjf.br.

Telefone: +55 (33) 99871-3303.

Data de submissão: XX/XX/20XX; Data do Aceite: XX/XX/20XX.

Citar: MOREIRA JLL, SALVADOR MR, LANG KL, MENDONÇA LM. Genotoxicidade do extrato etanólico de *Xylosma prockia* (Salicaceae) avaliada por ensaio do cometa em células RAW 264.7. Revista Fitoterápicos. Rio de Janeiro. 2025; v. X (n. X): p. X - X. e-ISSN 2446.4775. Disponível em: <X>. Acesso em: dd/mm/aaaa.

ARTIGO DE PESQUISA

Resumo

Xylosma prockia (Salicaceae) é uma espécie nativa do Brasil com poucos estudos sobre segurança biológica, cujos extratos já mostraram atividade antifúngica em estudos anteriores. Dado o potencial genotóxico de extratos vegetais e a ausência de dados para a espécie, torna-se necessária a avaliação inicial de seu perfil toxicológico por métodos sensíveis, como o ensaio do cometa. Este estudo teve como objetivo investigar o potencial genotóxico do extrato etanólico das folhas de *Xylosma prockia* em células RAW 264.7. As células foram expostas por 6 horas às concentrações de 0,05; 0,25; 0,5 e 1,0 mg/mL. A viabilidade celular, avaliada pelo método de exclusão do azul de tripan, permaneceu superior a 70% em todos os grupos, sem diferenças significativas. As frequências das classes de dano e o índice de dano não diferiram do controle negativo e não apresentaram relação dose-dependente, enquanto o controle positivo confirmou a responsividade do ensaio ao produzir o padrão esperado de lesões genéticas. Os resultados indicam que o extrato etanólico de *Xylosma prockia* não induziu danos ao DNA nas condições testadas, contribuindo para o estabelecimento de um perfil toxicológico inicial e apoiando a continuidade dos estudos sobre seu potencial terapêutico.

Palavras-chave: *Xylosma prockia*. Genotoxicidade. Ensaio do cometa. Avaliação de toxicidade.

ARTIGO DE PESQUISA

Abstract

Xylosma prockia (Salicaceae) is a native Brazilian species with few biological safety studies, whose extracts have already shown antifungal activity in previous research. Given the potential genotoxicity of plant extracts and the lack of data for this species, an initial assessment of its toxicological profile using sensitive methods such as the comet assay is required. This study aimed to investigate the genotoxic potential of the ethanolic leaf extract of *Xylosma prockia* in RAW 264.7 cells. The cells were exposed for 6 hours to concentrations of 0.05, 0.25, 0.5, and 1.0 mg/mL. Cell viability, assessed by the trypan blue exclusion method, remained above 70% in all groups, with no significant differences. The frequencies of damage classes and the damage index did not differ from the negative control and showed no dose-dependent pattern, while the positive control confirmed assay responsiveness by producing the expected genetic lesions. The results indicate that the ethanolic extract of *Xylosma prockia* did not induce DNA damage under the tested conditions, contributing to the establishment of an initial toxicological profile and supporting further studies on its therapeutic potential.

Keywords: *Xylosma prockia*. Genotoxicity. Comet assay. Toxicity assessment.

ARTIGO DE PESQUISA

Abreviações

DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
LMP	Low Melting Point
M	Molar
mg	Miligramma
mL	Mililitro
mM	Milimolar
MMS	Metanosulfonato de metila
RPM	Rotações por minuto
RPMI-1640	Meio de cultura 1640 do Instituto Memorial Roswell Park
SFB	Soro Fetal Bovino
<i>X. prockiae</i>	<i>Xylosma prockiae</i>
µg	Micrograma

Introdução

A *Xylosma prockia* (Turcz.) Turcz. (Salicaceae) é uma espécie terrestre nativa do Brasil, pertencente à família Salicaceae^[1]. Apresenta-se como arbusto ou árvore de 4 a 6 metros e possui ampla distribuição, ocorrendo na Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica, com populações disjuntas no norte desta última^[2]. Morfológicamente, aproxima-se de *Xylosma glaberrima*, diferenciando-se principalmente pelo pedicelo pubérulo das flores^[3]. Popularmente, recebe diferentes denominações, como sucará, açucará, espinho-de-judeu e espinho-de-agulha^[4].

No contexto da família Salicaceae, composta predominantemente por espécies arbóreas ou arbustivas que apresentam folhas simples, em sua maioria alternadas e com margens inteiras ou levemente serradas^[4], *Xylosma prockia* ocupa uma posição singular. A espécie chama atenção por possuir tronco e ramos fortemente armados, portando espinhos alongados que podem atingir cerca de 8 cm, característica pouco usual quando comparada às demais representantes do grupo^{[3][4]}. Outro traço distintivo é a formação de frutos carnosos do tipo baga, o que contribui ainda mais para diferenciá-la dentro da família^[4]. No território brasileiro, a diversidade da Salicaceae é expressiva, abrangendo 18 gêneros e 96 espécies registradas, das quais 30 são reconhecidas como endêmicas^{[2][3]}.

Apesar de apresentar ampla distribuição, o potencial terapêutico da espécie permanece pouco explorado. As evidências existentes são limitadas a estudos *in vitro* que demonstraram atividade antifúngica do extrato etanólico^{[5][6]}, indicando que a espécie pode constituir fonte promissora de compostos antimicrobianos, sobretudo diante do aumento da resistência fúngica e da baixa toxicidade observada em células humanas^{[5][6]}.

Extratos vegetais podem apresentar efeitos toxicológicos, reforçando a necessidade de avaliar sua segurança por meio de testes capazes de detectar

ARTIGO DE PESQUISA

mutações e alterações cromossômicas em sistemas *in vitro* e *in vivo*^{[7][8]}. Esses extratos contêm misturas complexas de fitoquímicos que podem gerar efeitos terapêuticos e, simultaneamente, reações indesejadas, exigindo análises de eficácia e toxicidade^{[7][9]}.

Estudos toxicológicos *in vitro* constituem etapa inicial para identificar potenciais riscos, como citotoxicidade e genotoxicidade, permitindo que testes *in vivo*, mais complexos e custosos, sejam realizados apenas quando necessário, otimizando recursos e reduzindo o uso de material biológico^{[10][11]}.

A genotoxicidade corresponde à capacidade de um agente químico, físico ou biológico de causar danos ao material genético, afetando o ácido desoxirribonucleico (DNA) e elementos cromossômicos associados, podendo gerar alterações permanentes e hereditárias, o que se denomina como mutação^{[7][11]}. Agentes mutagênicos são classificados como genotóxicos, porém, nem todo agente genotóxico é capaz de induzir mutações^[12].

Testes de genotoxicidade têm boa capacidade preditiva para carcinogenicidade e auxiliam na interpretação de estudos específicos ao esclarecer mecanismos de ação^[13]. Para fins regulatórios, recomenda-se utilizar uma bateria de testes que inclua sistemas bacterianos, células de mamíferos *in vitro* e ensaios *in vivo*, ampliando a sensibilidade na detecção de carcinógenos e o espectro de alterações genéticas identificáveis^{[8][13]}.

O ensaio do cometa (Single Cell Gel Electrophoresis) é um método simples, sensível e rápido utilizado para quantificar danos e reparo do DNA em células individuais^{[14][15]}. É amplamente empregado por sua aplicabilidade a diferentes tipos celulares e pela alta sensibilidade na detecção de lesões genéticas^{[16][17]}, sendo utilizado em triagens *in vitro* e avaliações *in vivo* para identificar efeitos em tecidos-alvo^{[18][19]}. Também é consolidado em biomonitoramento, incluindo pesquisas com fitoquímicos, devido à baixa demanda de células, baixo custo e simples execução^{[14][20]}.

Considerando que Folly *et al.* (2020)^[5] caracterizaram o extrato etanólico das folhas de *X. prockia* com atividade antifúngica significativa contra *Cryptococcus gattii* e *Cryptococcus neoformans*, e Silva *et al.* (2025)^[6] identificou essa mesma ação contra *Candida parapsilosis*, destaca-se a importância de desenvolver tanto estudos de segurança quanto de efetividade, uma vez que ambos são essenciais para fundamentar potenciais aplicações terapêuticas. Até o momento, apenas dados de citotoxicidade foram relatados, restritos à análise em células mononucleares do sangue periférico^[5]. Assim, este trabalho busca contribuir para a avaliação da segurança do extrato etanólico das folhas de *X. prockia* por meio do ensaio cometa *in vitro*, auxiliar na construção do perfil toxicológico inicial da espécie e suprir a ausência de dados genotóxicos na literatura sobre a espécie.

Material e métodos

Material botânico

Folhas de *X. prockia* foram coletadas no Sítio Pindorama em Governador Valadares, Minas Gerais, Brasil. A espécie foi identificada pelo botânico Ronaldo Marquete e depositada no Herbário RB (RB 773293) do Jardim Botânico do Rio de Janeiro. A pesquisa foi autorizada pelo Sistema Nacional de Gestão do Património Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen; nº. A66F830).

Obtenção do extrato vegetal

As folhas frescas da planta foram secas em estufa de ar circulante em temperatura inferior a 60°C. O material foi moído em moinho de facas e macerado com álcool etílico 96°GL em temperatura ambiente. Após quatro dias, o extrato foi filtrado e o solvente foi removido sob baixa pressão, em temperatura menor que 60°C. O procedimento foi conduzido em triplicata, resultando em um extrato posteriormente dissolvido em dimetilsulfóxido (DMSO) até atingir a

concentração de 250 mg/mL. Sua concentração foi limitada a 0,4%, a fim de evitar qualquer efeito do solvente orgânico sobre a linhagem celular.

Condições das culturas de células

Células RAW 264.7 foram conservadas em meio de congelamento composto por soro fetal bovino (SFB) e 10% de dimetilsulfóxido (DMSO), e armazenadas em nitrogênio líquido a aproximadamente -196°C. O descongelamento foi feito em banho-maria por dois minutos a 37°C. Sob condições estéreis, todo o conteúdo recebeu meio completo e foi levado para centrifugação em 1000 RPM a 4°C durante cinco minutos. Em seguida, o sobrenadante foi descartado e o pellet suspenso, recebendo mais meio completo. O conteúdo foi transferido para um novo frasco e centrifugado novamente nas mesmas condições. Após a retirada do sobrenadante, as células foram suspensas novamente e transferidas para um frasco de cultura de 25 cm², sendo adicionado meio completo. Em atmosfera úmida com 5% de CO₂ e temperatura constante de 37°C, o frasco foi armazenado.

Utilizou-se de meio de cultura RPMI-1640 suplementado com 1% de L-glutamina, 0,5% penicilina/estreptomicina e 10% de SFB inativado e estéril. O meio de cultura foi renovado a cada dois dias. Quando atingiam 80% de confluência, as células eram transferidas para novos frascos.

Avaliação de citotoxicidade

A citotoxicidade do extrato etanólico das folhas de *Xylosma prockia* foi avaliada por meio do método de exclusão do corante azul de tripano (Trypan Blue), utilizada para estimar a viabilidade celular com base na integridade da membrana. Nesse ensaio, células viáveis permanecem impermeáveis ao corante, enquanto células danificadas ou mortas o absorvem, permitindo sua distinção morfológica sob microscopia óptica.

Após o tratamento experimental com as diferentes concentrações do extrato etanólico de *Xylosma prockia* por 6 horas (0,05; 0,25; 0,5 e 1,0 mg/mL), além dos controles negativo e positivo (150 µg/mL de metil metanosulfonato MMS), uma alíquota de cada amostra foi coletada e submetida à análise de viabilidade. Para isso, 10 µL da suspensão celular foram misturados a 10 µL de solução de Trypan Blue a 0,4% e incubados por 2 minutos à temperatura ambiente. Em seguida, 10 µL da mistura foram adicionados à câmara de Neubauer para contagem.

As células coradas (não viáveis) e não coradas (viáveis) foram quantificadas manualmente em microscópio óptico, utilizando objetiva de 10x. A porcentagem de viabilidade celular foi calculada utilizando a seguinte equação: % Viabilidade = (número de células viáveis / número total de células) × 100.

Amostras com viabilidade inferior a 70% foram consideradas inadequadas para continuidade da avaliação genotóxica, conforme recomendações para ensaios de detecção de dano ao DNA.

Ensaio cometa alcalino

O ensaio cometa alcalino foi realizado para avaliar o dano ao DNA, conforme os métodos descritos por Tice *et al.* (2000)^[14] e Singh *et al.* (1988)^[21], com adaptações. Células foram cultivadas por 48 horas e posteriormente tratadas com o extrato etanólico de *X. prockia* nas concentrações de 0,05; 0,25; 0,5 e 1,0 mg/mL, além dos controles negativo e positivo (MMS 150 µg/mL), por 6 horas.

Após o tratamento, as células foram incorporadas em agarose de baixo ponto de fusão (LMP) sobre lâminas pré-gelatinizadas e mantidas a 4°C. As lâminas foram submetidas à lise (2,5 M NaCl, 100 mM EDTA, 10 mM Tris, pH 10) por 24 h a 4°C, seguidas de eletroforese alcalina (300 mM NaOH, 1 mM EDTA, pH > 13) por 20 minutos a 25 V (1 V/cm).

Em seguida, as lâminas foram coradas com brometo de etídio ($20 \mu\text{g/mL}$) e analisadas em microscópio de fluorescência (excitação 515–560 nm; barreira 590 nm; objetiva 40x). Foram avaliados 100 núcleos por lâmina, classificados em cinco categorias (0 - 4) conforme o tamanho e a intensidade da cauda. O índice de dano (DI) foi calculado pela fórmula: $\text{DI} = (1 \times n_1) + (2 \times n_2) + (3 \times n_3) + (4 \times n_4)$, onde n_0-n_4 representam o número de núcleos com níveis de dano de 0 a 4.

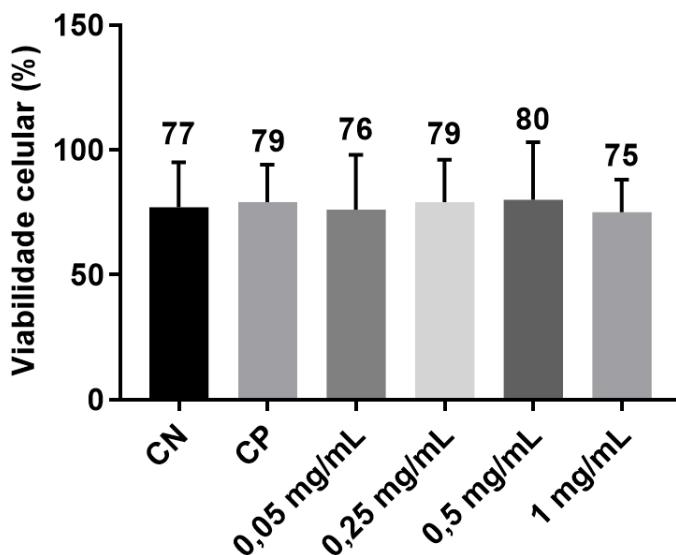
Análise estatística

Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão, considerando cinco experimentos independentes ($n = 5$). As diferenças entre os grupos foram avaliadas por análise de variância (ANOVA de uma via), seguida do Teste de Comparações Múltiplas de Tukey, utilizando o software GraphPad Prism (versão 10.6.1). Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos para todos os parâmetros analisados.

Resultados e Discussão

O ensaio foi conduzido com o objetivo de avaliar o potencial genotóxico do extrato etanólico de *Xylosma prockia*. Inicialmente, realizou-se a análise de viabilidade celular para assegurar condições adequadas à interpretação do teste genotóxico. Após 6 horas de exposição, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos ($p > 0,05$). Todas as concentrações testadas apresentaram viabilidade superior a 70% e não exibiram relação dose-dependente. As células mantiveram-se viáveis em todas as condições avaliadas (Figura 1).

FIGURA 1. Viabilidade celular das células RAW 264.7 após exposição a diferentes concentrações do extrato etanólico das folhas de *X. prockia*.



Valores expressos como média \pm desvio padrão (DP) de cinco experimentos independentes realizados após 6 horas de exposição. (CN): controle negativo; (CP): controle positivo; (DP): desvio padrão. Não foi observada diferença estatisticamente significativa, $p > 0,05$ (ANOVA; Teste de Comparações Múltiplas de Tukey).

A manutenção desse nível de viabilidade celular confirma que o extrato não comprometeu a integridade celular, indicando ausência de efeito citotóxico nas condições experimentais. Dessa forma, o modelo empregado permitiu a realização do ensaio do cometa sem interferências decorrentes de citotoxicidade, garantindo que a avaliação do dano ao DNA refletisse exclusivamente o potencial efeito genotóxico do extrato [22].

Os dados referentes ao ensaio cometa estão apresentados na Tabela 1 e na Figura 2. A Tabela 1 mostra que as frequências de danos nas classes 1 a 4 permaneceram semelhantes às observadas no controle negativo, enquanto o controle positivo exibiu o aumento esperado no número de nucleoides danificados, confirmando a sensibilidade do ensaio. Não foram identificadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos ($p > 0,05$), indicando

que as frequências das classes de nucleoides mantiveram-se dentro da mesma variação observada para o controle negativo.

Os perfis de distribuição das classes de nucleoides indicaram que o EEXP não aumentou o dano ao DNA em relação ao controle negativo. Embora células nas classes 2-4 tenham sido observadas, suas frequências permaneceram dentro da mesma faixa encontrada no controle negativo, sem diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$). O extrato não elevou o nível de quebras primárias de DNA nas condições testadas, visto que, houve predominância de nucleoides de classes 0 e 1.

O índice de dano não apresentou aumento progressivo com a elevação da dose. A análise estatística desse parâmetro demonstrou diferença global entre os grupos (ANOVA, $p < 0,05$). Em seguida, o pós-teste de Tukey revelou que o controle negativo e as concentrações de 0,05 mg/mL, 0,25 mg/mL e 0,5 mg/mL apresentaram diferença significativa em relação ao controle positivo, indicando ausência de indução de dano ao DNA. A ausência de diferença estatística das concentrações em relação ao controle negativo combinada com a presença de diferença estatística em relação ao controle positivo, indica que os tratamentos não exerceram efeito genotóxico detectável nas células RAW 264.7 nas condições experimentais avaliadas. Os resultados estão representados na Figura 2.

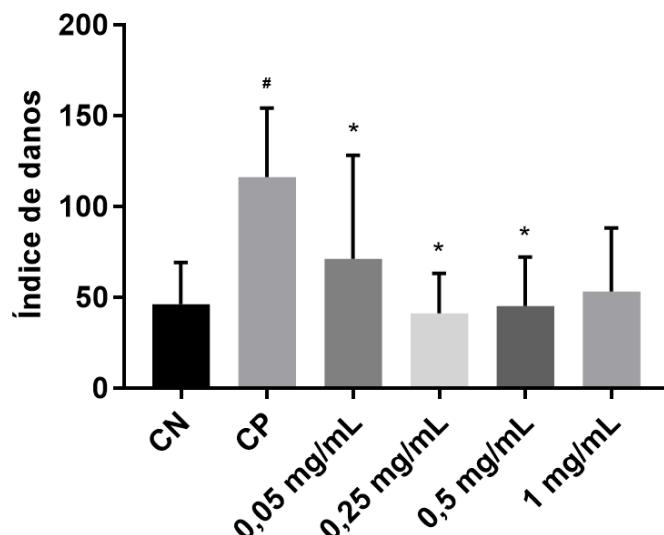
TABELA 1. Classes de dano ao nucleoide após exposição de células a diferentes concentrações do extrato etanólico das folhas de *X. procia*.

Tratamentos	Classes de Danos ao Nucleoide				
	0	1	2	3	4
Controle negativo	73 ± 19	14 ± 16	9 ± 6	3 ± 3	1 ± 1
Controle positivo	42 ± 21	22 ± 14	17 ± 10	13 ± 8	5 ± 7
0,05 mg/mL	56 ± 19	20 ± 8	13 ± 9	4 ± 5	4 ± 8
0,25 mg/mL	75 ± 13	11 ± 8	11 ± 11	2 ± 1	0 ± 1
0,5 mg/mL	73 ± 14	12 ± 11	12 ± 9	2 ± 3	1 ± 2
1 mg/mL	65 ± 32	28 ± 25	8 ± 4	2 ± 3	1 ± 1

Dados do ensaio do cometa alcalino após 6 horas de tratamento. Os resultados são expressos como média ± desvio padrão de cinco experimentos independentes. Não foram detectadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos ($p > 0,05$; ANOVA seguida do teste de comparações múltiplas de Tukey).

Em 1 mg/mL não houve diferença estatística em relação ao controle negativo, demonstrando que não ocorreu um padrão definido de genotoxicidade. A manutenção das frequências de nucleoides danificados dentro da faixa observada no controle negativo demonstra que o achado decorre de variação experimental, e não de um efeito genotóxico induzido pelo extrato.

FIGURA 2. Índice de dano (DI) de células expostas a diferentes concentrações do extrato etanólicos de folhas da *X. Prockia*.



Valores expressos como média \pm desvio padrão (DP) de cinco experimentos independentes realizados após 6 horas de exposição. (CN): controle negativo; (CP): controle positivo; (DP): desvio padrão; (#): Diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) em relação ao controle negativo; (*): Diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) em relação ao controle positivo (ANOVA, seguida pelo Teste de Comparações Múltiplas de Tukey).

O presente estudo utilizou o ensaio do cometa para avaliar o potencial genotóxico do extrato etanólico de *Xylosma prockia* em células RAW 264.7. Esse método é amplamente empregado na detecção de genotoxicidade em extratos e compostos vegetais, pois quantifica danos ao DNA em diferentes linhagens de células de mamíferos^[15]. Mesmo concentrações não citotóxicas podem induzir lesões no DNA, potencialmente associadas à instabilidade genômica e ao desenvolvimento de doenças, incluindo câncer^[23]. A linhagem RAW 264.7 foi escolhida por permitir uma avaliação inicial da segurança do extrato vegetal antes de estudos *in vivo* ou em modelos celulares mais complexos, conforme abordagens amplamente utilizadas em triagens toxicológicas iniciais^[24].

O ensaio cometa consegue detectar danos mesmo em níveis baixos, desde que exista diferença clara em relação ao controle negativo^[20]. No presente estudo, o

ARTIGO DE PESQUISA

Índice de Dano mostrou que as concentrações de 0,05, 0,25 e 0,5 mg/mL foram diferentes do controle positivo ($p < 0,05$), indicando ausência de dano ao DNA nessas concentrações.

A ausência de genotoxicidade observada neste estudo deve ser interpretada à luz da composição química já descrita para a espécie. Embora não existam dados toxicológicos publicados para *Xylosma prockia*, sabe-se que seu extrato etanólico apresenta elevado teor de compostos fenólicos^[5]. Esses metabólitos são conhecidos por exercerem ação antioxidant e, dependendo da concentração e do ambiente celular, podem atuar de forma dual, apresentando também efeitos pró-oxidantes^{[25][26]}.

Estudos com extratos ricos em polifenóis mostram que concentrações moderadas tendem a não gerar dano genético, enquanto doses mais altas podem induzir respostas pró-oxidantes^[27]. O mesmo trabalho demonstrou que compostos fenólicos podem reduzir danos induzidos por H₂O₂, reforçando a capacidade desses metabólitos de modular processos oxidativos e proteger o DNA^[27].

Entretanto, a interpretação desses achados exige cautela quando se considera a variabilidade toxicológica dentro da família. Espécies da família Salicaceae apresentam respostas toxicológicas variadas, como observado para *Salix alba*^[25] e *Casearia sylvestris*^[28], o que indica que os achados para *X. prockia* não necessariamente refletem o comportamento de outras espécies do grupo. Em *Salix alba*, extratos apresentaram citotoxicidade em concentrações mais elevadas e genotoxicidade leve em células não metabolizantes, enquanto o óleo essencial de *Casearia sylvestris* demonstrou efeito citotóxico e genotóxico mesmo em baixas concentrações.

No gênero *Xylosma*, extratos foliares de diferentes espécies mostram baixa citotoxicidade, embora compostos isolados, como quinonas e derivados fenólicos, apresentem toxicidade relevante^{[25][29]}. A variação química entre

espécies e entre diferentes partes da planta reforça a necessidade de caracterização química detalhada do extrato de *Xylosma prockia* avaliado^[30]. Neste estudo, essa caracterização não foi realizada, o que limita a interpretação dos resultados quanto ao perfil fenólico e possíveis marcadores químicos. Além disso, o uso exclusivo da linhagem RAW 264.7, que não possui capacidade metabolizante, restringe a extração dos achados. Modelos celulares com metabolismo ativo podem inativar compostos potencialmente genotóxicos, tornando indispensável sua inclusão em estudos futuros com a *Xylosma prockia*^[25].

Conclusão

Os resultados indicam que o extrato etanólico de *Xylosma prockia* não apresentou genotoxicidade no ensaio do cometa em células RAW 264.7 nas condições testadas. Esse achado sugere um perfil inicial de segurança, porém conclusões definitivas exigem estudos adicionais, incluindo ensaios que avaliem metabolismo, outros modelos celulares e investigações *in vivo*.

Fonte de financiamento

Não há.

Conflito de interesses

O presente artigo não apresenta conflito de interesses.

Referências

1. The Brazil Flora Group (BFG). Brazilian Flora 2020: Leveraging the power of a collaborative scientific network. **TAXON.** 2021; 71(1): 178-198. [<https://doi.org/10.1002/tax.12640>].

ARTIGO DE PESQUISA

2. The Brazil Flora Group (BFG). Brazilian Flora 2020: Innovation and collaboration to meet Target 1 of the Global Strategy for Plant Conservation (GSPC). **Rodriguésia**. 2018; 69(4):1513-1527. [<https://doi.org/10.1590/2175-7860201869402>].
3. Nepomuceno Á, Alves M. Salicaceae na porção norte da Mata Atlântica. **Rodriguésia**. 2020; 71: 1-30. [<https://doi.org/10.1590/2175-7860202071133>].
4. Cordeiro JMP, Almeida EM, Felix LP. Estudos taxonômicos da família Salicaceae mirb. na caatinga sublitorânea da Paraíba. **Geoambiente On-line**. 2014; 1(23): 17-32. [<https://doi.org/10.5216/revgeoamb.v0i23.32117>].
5. Folly MLC, Ferreira GF, Salvador MR, Sathler AA, da Silva GF, Santos JCB, et al. Evaluation of in vitro Antifungal Activity of *Xylosma prockia* (Turcz.) Turcz. (Salicaceae) Leaves Against *Cryptococcus* spp. **Frontiers in Microbiology**. 2020; 10(1): 1-13. [<https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.03114>].
6. Silva GF, Rosa Q, Folly M, Freitas GJ, Santos D, Lang K, et al. Antimicrobial activity of *Xylosma prockia* (Turcz.) Turcz. leaves against *Candida parapsilosis* in vitro. **BIOFARM - Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management**. 2025;19(1): 25-33. [<https://doi.org/10.18391/biofarm.v19i1.4097>].
7. Sponchiado G, Adam ML, Silva C, Silva Soley B, de Mello-Sampayo C, Cabrini D, et al. Quantitative genotoxicity assays for analysis of medicinal plants: A systematic review. **Journal of Ethnopharmacology**. 2016; 178(1): 289-296. [<https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.10.026>].
8. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Guia para a Condução de Estudos Não Clínicos de Toxicologia e Segurança Farmacológica Necessários ao Desenvolvimento de Medicamentos – Versão 2. 2013. 48p. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/medicamentos/pesquisa-clinica/manuais-e->

ARTIGO DE PESQUISA

[guias/guia-para-a-conducao-de-estudos-nao-clinicos-de-toxicologia-e-seguranca-farmacologica-necessarios-ao-desenvolvimento-de-medicamentos-versao-2.pdf/view](#). Acesso em: 14 ago. 2025.

9. Azmir J, Zaidul ISM, Rahman MM, Sharif KM, Mohamed A, Sahena F, et al. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. **Journal of Food Engineering.** 2013;117(4): 426–436. [<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014>].

10. Santos K, Barbosa A, Freitas V, Muniz A, Mendonça M, Calhelha R, et al. Antiproliferative Activity of Neem Leaf Extracts Obtained by a Sequential Pressurized Liquid Extraction. **Pharmaceuticals.** 2018; 11(3): 1-10. [<https://doi.org/10.3390/ph11030076>].

11. Jacociunas LV, Andrade HHR, Lehmann M, Abreu BRR, Ferraz ABF, et al. Artichoke induces genetic toxicity in the cytokinesis-block micronucleus (CBMN) cytome assay. **Food and Chemical Toxicology.** 2012; 55: 56-59. [<https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.12.024>].

12. Kirkland D, Aardema M, Henderson L, Müller L. Evaluation of the ability of a battery of three *in vitro* genotoxicity tests to discriminate rodent carcinogens and non-carcinogens: I. Sensitivity, specificity and relative predictivity. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis.** 2005; 584(1-2): 1-256. [<https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2005.02.004>].

13. EUROPEAN MEDICINES AGENCY (EMA). ICH guideline S2 (R1) on genotoxicity testing and data interpretation for pharmaceuticals intended for human use - Step. 2012. 28p. [<https://www.ema.europa.eu/en/ich-s2-r1-genotoxicity-testing-data-interpretation-pharmaceuticals-intended-human-use-scientific-guideline>]. Acesso em: 27 ago. 2025.

14. Tice RR, Agurell E, Anderson D, Burlinson B, Hartmann A, Kobayashi H, et al. Single cell gel/comet assay: Guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing. **Environmental and Molecular Mutagenesis**. 2000; 35(3): 206-221. [[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2280\(2000\)35:3%3C206::AID-EM8%3E3.0.CO;2-J](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2280(2000)35:3%3C206::AID-EM8%3E3.0.CO;2-J)].
15. Møller P. Measurement of oxidatively damaged DNA in mammalian cells using the comet assay: Reflections on validity, reliability and variability. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**. 2021; 873: 1-11. [<https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2021.503423>].
16. Verschaeve L, Edziri H, Anthonissen R, Boujnah D, Skhiri F, Chehab H, et al. In vitro Toxicity and genotoxic activity of aqueous leaf extracts from four varieties of *Olea europaea* (L). **Pharmacognosy Magazine**. 2017; 13(49): 63-68. [<http://dx.doi.org/10.4103/0973-1296.203980>].
17. Santos FJB, Moura DJ, Péres VF, Sperotto ARM, Caramão EB, et al. Genotoxic and mutagenic properties of *Bauhinia platypetala* extract, a traditional Brazilian medicinal plant. **Journal of Ethnopharmacology**. 2012; 144(3): 474–482. [<https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.08.047>].
18. Diab KA, Fahmy MA, Hassan ZM, Hassan EM, Salama AB, Omara EA. Genotoxicity of carbon tetrachloride and the protective role of essential oil of *Salvia officinalis* L. in mice using chromosomal aberration, micronuclei formation, and comet assay. **Environmental Science and Pollution Research**. 2017; 25(2):1621–1636. [<https://doi.org/10.1007/s11356-017-0601-2>].
19. Lopes LC, Albano F, Augusto G, Laranja GAT, Alves LM, Fernando L, Silva LFM, et al. Toxicological evaluation by in vitro and in vivo assays of an aqueous extract prepared from *Echinodorus macrophyllus* leaves. **Toxicology Letters**. 2000; 116(3): 189–198. [[https://doi.org/10.1016/S0378-4274\(00\)00220-4](https://doi.org/10.1016/S0378-4274(00)00220-4)].

20. Collins AR. The comet assay for DNA damage and repair: principles, applications, and limitations. **Molecular Biotechnology**. 2004; 26(3): 249–261. [<https://doi.org/10.1385/mb:26:3:249>].
21. Singh NP, McCoy MT, Tice RR, Schneider EL. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. **Experimental Cell Research**. 1988; 175(1): 184–191. [[https://doi.org/10.1016/0014-4827\(88\)90265-0](https://doi.org/10.1016/0014-4827(88)90265-0)].
22. ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT (OECD). Test No. 487: *In Vitro* Mammalian Cell Micronucleus Test. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4. 2023. 30p. Disponível em: [https://www.oecd.org/en/publications/test-no-487-in-vitro-mammalian-cell-micronucleus-test_9789264264861-en.html]. Acesso em: 11 set. 2025.
23. De Barros MC, Videres LCC de A, Batista AM, Guerra MMP, Coelho LCBB, da Silva TG, Napoleão TH, Paiva PMG. Cytotoxicity and genotoxicity assessment of the extract and lectins from *Moringa oleifera* Lam. Seeds. **Brazilian Journal of Development**. 2021; 7(10): 94854-94869. [<https://doi.org/10.34117/bjdv7n10-002>].
24. Teófilo MNG, Costa LG, Rocha JD, Barbosa FG, Melo AM, et al. Bioactive Compounds, Antioxidant, Cytotoxic, and Genotoxic Investigation of the Standardized Liquid Extract from *Eugenia involucrata* DC. Leaves. **Pharmaceuticals**. 2025; 18(5): 1-20. [<https://doi.org/10.3390/ph18050764>].
25. Maistro EL, Terrazzas PM, Perazzo FF, Gaivão IODM, Sawaya ACHF, Rosa PCP. *Salix alba* (white willow) medicinal plant presents genotoxic effects in human cultured leukocytes. **Journal of Toxicology and Environmental Health Part A**. 2019; 82(23-24): 1223-1234. [<https://doi.org/10.1080/15287394.2019.1711476>].

ARTIGO DE PESQUISA

26. Grujić D, Marković A, Vukajlović JT, Stanković M, Jakovljević MR, Ćirić A, et al. Genotoxic and cytotoxic properties of two medical plants (*Teucrium arduini* L. and *Teucrium flavum* L.) in relation to their polyphenolic contents. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**. 2020; 852: 1-9. [<https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2020.503168>].
27. Zahra Sabahi, Muhammad S, Seyed Abdulmajid Ayatollahi, Fatemeh Farmani, Afshin Afsari, Mahmoodreza Moein. Improvement of Phenolic Compound Extraction by Using Ion Exchange Chromatography and Evaluation of Biological Activities of Polyphenol-enriched Fraction of *Rosa canina* Fruits. **Iran J Pharm Res**. 2022; 21(1): 1-10. [<https://doi.org/10.5812/ijpr-126558>].
28. Pereira FG, Marquete R, Oliveira-Cruz L, Quintanilha-Falcão D, Mansur E, Moreira D. Cytotoxic effects of the essential oil from leaves of *Casearia sylvestris* Sw. (Salicaceae) and its nanoemulsion on A549 tumor cell line. Redalyc (Universidad Autónoma del Estado de México). **Boletín latino-americano y del Caribe de plantas medicinales y aromáticas**. 2017; 16(5): 506-512. [<https://www.redalyc.org/pdf/856/85652864006.pdf>].
29. Duarte-Casar R, Romero-Benavides JC. *Xylosma* G. Forst. Genus: Medicinal and Veterinary Use, Phytochemical Composition, and Biological Activity. **Plants**. 2022; 11(9): 1-16. [<https://doi.org/10.3390/plants11091252>].
30. Truong BN, Pham VC, Mai HDT, Nguyen VH, Nguyen MC, Nguyen TH, et al. Chemical constituents from *Xylosma longifolia* and their anti-tubercular activity. **Phytochemistry Letters**. 2011; 4(3): 250–253. [<https://doi.org/10.1016/j.phytol.2011.04.008>].