



Potencial citogenotóxico e antigenotóxico do hidrato de morina em células meristemáticas de *Allium cepa* L.

Cytogenotoxic and antigenotoxic potential of morin hydrate in meristematic cells of *Allium cepa* L.

M. J. Gomes Nunes¹; J. M. Figueiredo Watanabe¹, F. A. Martins²; P. M. de Almeida¹

¹Departamento de Genética, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual do Piauí, 64.001-280, Teresina-Piauí, Brasil

² Departamento de Química, Programa de Pós-Graduação em Química/PPGQ-GERATEC-DQ, Universidade Estadual do Piauí, 64078-213, Teresina- Piauí, Brasil

* pedromarcos@ccs.uespi.br

(Recebido em dia de mês de ano; aceito em dia de mês de ano)

Hidrato de Morina (HM) é um composto polifenólico obtido a partir de várias espécies das famílias Roseaceae, Moraceae e Fabaceae. O HM apresenta atividades anti-inflamatória, antioxidante e antiproliferativa. Embora vários trabalhos tenham sido realizados com o HM comprovando a sua importância farmacológica, pesquisas sobre avaliação toxicogenética ainda são incipientes. Sendo assim, o estudo teve como objetivo avaliar o efeito citogenotóxico e antigenotóxico do HM em células meristemáticas de *Allium cepa*. Após a germinação, as sementes de *A. cepa*, com raízes entre 1-2 cm foram submetidas ao controle negativo (Dimetilsulfóxido 2% - DMSO) e positivo (Metilmetanosulfonato, MMS) e no HM (15, 30, 45 e 60 µg/mL) para avaliar a citogenotoxicidade e antigenotoxicidade (protocolos simultâneo, pré e pós-tratamento). O HM apresentou efeito citotóxico apenas nas maiores concentrações (45 e 60 µg/mL), com redução significativa das prófases e não foi genotóxico (30, 45 e 60 µg/mL). Em termos de quimioproteção, o HM foi citoprotetor (15 e 30 µg/mL) no pré-tratamento e em todas as concentrações do pós-tratamento e antigenotóxico em todas as concentrações e protocolos, exceto nas menores concentrações do pós-tratamento. Assim, de forma geral, o HM não interferiu com a progressão do ciclo celular e não provocou danos ao DNA na maioria das concentrações e conseguiu neutralizar ação genotóxica do MMS, que pode estar associada à importante atividade antioxidante do HM, o que torna esta molécula promissora para estudos de quimioprevenção em células tumorais.

Palavras-chave: Alterações cromossômicas; Antioxidante; Bioflavonoide.

Although several studies have been carried out with HM proving its pharmacological importance, research on toxicogenetic evaluation is still incipient. Therefore, the study aimed to evaluate the cytogenotoxic and antigenotoxic effect of HM on meristematic cells of *Allium cepa*. After germination, *A. cepa* seeds with roots between 1-2 cm were subjected to negative (2% dimethyl sulfoxide - DMSO) and positive (methylmethanesulfonate, MMS) control and HM (15, 30, 45 and 60 µg/mL) to evaluate cytogenotoxicity and antigenotoxicity (simultaneous protocols, pre and post-treatment). HM showed cytotoxic effects only at the highest concentrations (45 and 60 µg/mL), with a significant reduction in prophase, and was not genotoxic (30, 45, and 60 µg/mL). In terms of chemoprotection, HM was cytoprotective (15 and 30 µg/mL) in the pre-treatment and at all post-treatment concentrations, and antigenotoxic at all concentrations and protocols, except at the highest post-treatment concentrations. Thus, in general, HM did not interfere with cell cycle progression and did not cause DNA damage at most concentrations and was able to neutralize the genotoxic action of MMS, which may be associated with an important antioxidant activity of HM, making this molecule important for chemoprevention studies in tumor cells.

Keywords: Chromosomal alterations; Antioxidant; Bioflavonoid.

1. INTRODUÇÃO

O uso de plantas para fins terapêuticos permanece até os dias atuais, sendo utilizado em todo o mundo [1,2], contribuindo de forma significativa para o desenvolvimento de fármacos, cosméticos, fragrâncias e outros bioprodutos. As plantas medicinais são utilizadas principalmente por pessoas que não possuem acesso à medicina tradicional [1], estimulando a comunidade científica a realizar estudos toxicológicos para verificar a eficácia e segurança dessas plantas [3]. Além disso, há grande interesse em realizar estudos de compostos que apresentem potencial efeito protetor contra danos ao DNA humano, característica importante para o desenvolvimento de novos fármacos [4].

As plantas oferecem diversas vias metabólicas que geram produtos de interesse farmacológico, como: quinonas, alcaloides, taninos ou terpenos e os flavonoides [5,6]. Dentre os compostos citados, os flavonoides destacam-se como um dos principais fitoquímicos com atividade antiviral [7], anti-inflamatória [8], antioxidante [9], antimutagênica e antitumoral [10].

Os fitoquímicos detectados nas plantas medicinais podem apresentar atividade quimioprotetora por reduzir níveis de danos ao DNA por meio dos seus efeitos antimutagênicos e/ou antigenotóxicos [11]. Os mecanismos que conferem aos fitoquímicos medicinais efeito quimioprotetor ainda não são completamente compreendidos. No entanto, sabe-se que flavonoides, taninos, cumarinas, entre outros, reduzem o estresse oxidativo, desintoxicam carcinógenos, modulando a atividade das enzimas do citocromo P450 fases I e II, inibem o crescimento, a proliferação e a metástase das células cancerígenas [12].

Nesse contexto, destaca-se um composto polifenólico a Morina, um bioflavonoide, encontrado nas famílias Roseaceae, Moraceae e Fagaceae, presente em frutas como amora, maçã e em folhas de chá, caracterizada por sua coloração amarelada, estável, relativamente neutro e parcialmente solúvel em água e completamente solúvel em solventes orgânicos. Estudos apontam que essa substância possui propriedades citoprotetoras, anti-cancerígenas, antimutagênicas, anti-inflamatórias, antibacterianas, reguladoras de enzima e anti-peroxidação lipídica e como um potente antioxidante [2,13,14,15,]. As hidroxilas do HM são responsáveis pelo sequestro de radicais superóxidos e espécies reativas de oxigênio (EROs) como: ânions superóxido, radicais hidroxila e peróxido de hidrogênio [16].

O alto potencial antioxidante do HM está relacionado à presença da ligação dupla entre os átomos C2-C3 e a presença de uma hidroxila que ativa a ligação dupla na posição C3. Adicionalmente, o potencial de peroxidação antilipídica deve-se a existência de dois grupos hidroxila nas posições 2' e 4' do anel B [2,17]. Além disso, sua ação benéfica já foi comprovada em diferentes comorbidades [18,19,20]. Kim e Park [21], evidenciaram que o HM atua na modulação da degeneração macular relacionada à idade (DMRI) por meio da supressão do estresse oxidativo do retículo endoplasmático e acúmulo de lipídios e apresenta grande espectro de propriedades farmacológicas com baixa citotoxicidade em cultura celular e em modelos animais [17]. A ação farmacológica do HM ocorre devido a modulação de várias vias de sinalização incluindo: fator nuclear de células B ativadas (NF-κB), proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK), retículo endoplasmático e apoptose mediada por mitocôndria [22].

Embora vários trabalhos tenham sido realizados com o HM comprovando a sua importância farmacológica, pesquisas sobre avaliação toxicogenética ainda são incipientes. Para avaliar os efeitos tóxico, citogenotóxico e protetor do HM, pode-se utilizar diferentes bioensaios tais como *Allium cepa* [23]. Com o *A. cepa* é possível avaliar o índice mitótico e alterações cromossômicas de origem clastogênica (quebras cromossômicas) e/ou aneugênicas (alterações nas fibras do fuso que induzem segregação anormal dos cromossomos) [23]. O estudo com *A. cepa* tem como vantagens seu baixo custo, confiabilidade e boa concordância com outros métodos, como os utilizados em células animais, sendo útil para prever possíveis efeitos em eucariotos superiores [24,25,26,27].

Considerando o potencial antioxidante do HM e a necessidade de estudos toxicogenéticos, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito citotóxico, genotóxico e protetor em células meristemáticas de *A. cepa*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Hidrato de Morina

O HM (C₁₅H₁₀O₇ - M4008-2G) foi obtido da empresa Sigma- Aldrich.

2.2. Ensaio *A. cepa*.

Cem sementes de *A. cepa* foram colocadas em cada placa de Petri e germinadas com água destilada em incubadora (BOD SL - 224®) com fotoperíodo de 12 h e temperatura de 25°C por cinco dias. Após a germinação, as sementes com raízes entre 1-2 cm foram submetidas a diferentes tratamentos para avaliar a citogenotoxicidade e antigenotoxicidade do HM, segundo Mauro et al. (2014) e Rocha et al. (2016) [28,29].

As sementes foram transferidas para o controle negativo (CN) (Dimetilsulfóxido - DMSO a 2% em água destilada), controle do solvente (CS) (água destilada), controle positivo MMS I (Metilmetanosulfonato 10 µg/mL dissolvido em DMSO a 2%) e MMS II (dissolvido apenas em água destilada) e no HM (15, 30, 45, 60 µg/mL) dissolvidas em DMSO a 2%, com 30 sementes por placa de Petri por 48 h. As concentrações testadas da HM foram pré-selecionadas a partir de estudos em linfócitos humanos, que não apresentaram genotoxicidade e demonstraram efeito protetor da HM [14]. Tais concentrações também foram avaliadas quanto à toxicidade (média do tamanho das raízes) em *A. cepa* no presente estudo, o que resultou em efeito não tóxico do HM (dados não mostrados).

A antigenotoxicidade (efeito protetor) foi avaliada pela exposição das sementes às concentrações de HM antes, simultaneamente e depois ao MMS, representando o pré-tratamento, simultâneo e pós-tratamento, respectivamente [29]. No pré-tratamento, as raízes de *A. cepa* foram inicialmente expostas por 24 h às concentrações do HM e então permaneceram por mais 24 h em MMS. No simultâneo, as raízes foram expostas ao DMSO 2% por 24 h e depois simultaneamente ao MMS e HM por mais 24 h. Nos pós-tratamento, as raízes foram expostas ao MMS por 24 h, e posteriormente transferidas a novas placas contendo as concentrações do HM, mantendo-se por mais 24 h.

Após os tratamentos realizados, as raízes foram fixadas em Carnoy (3 etanol:1 ácido acético) por 6-8 h e estocadas a -20°C até o momento de preparo das lâminas. Para a confecção das lâminas, as raízes foram lavadas três vezes em água destilada por 5 min cada e hidrolisadas a 60 °C por 10 min em HCl 1N. Depois da hidrólise, as raízes foram novamente lavadas em água destilada e transferidas para frascos de vidro âmbar, contendo o Reativo de Schiff, onde permaneceram em local escuro, por 2h. As raízes foram então lavadas, até a total retirada do reativo, transferidas para as lâminas, onde foram esmagadas em uma gota de carmim acético a 2% e montadas com Entellan® [30].

A citotoxicidade, genotoxicidade e antigenotoxicidade foram avaliadas pela contagem de 5.000 células meristemáticas por tratamento (500 células/ lâminas, com um total de 10 lâminas analisadas por tratamento) em microscópio de luz com aumento de 400x. Foram avaliados para cada tratamento o índice mitótico (IM, citotoxicidade) e frequência de alterações cromossômicas (AC, genotoxicidade), resultantes de ação aneugênica (metáfase com aderência cromossômica, C-metáfase, perda cromossômica, anáfase multipolar, células binucleadas, metáfase poliploides, entre outras) e/ou de ação clastogênica (fragmentos cromossômicos em metáfase e anáfase, pontes cromossômicas e outras alterações).

$$\text{Índice mitótico} = \frac{\text{Número total de células em divisão}}{\text{Total de células observadas}} \times 100$$

$$AC = \frac{\text{Total de alterações cromossômicas}}{\text{Total de células observadas}}$$

O efeito protetor foi avaliado pela análise da porcentagem de redução de danos (%RD) para cada tratamento com HM, de acordo com a seguinte fórmula:

$$\%RD = [(a - b) / (a - c)] \times 100$$

(a = média das alterações cromossômicas do CP; b = média das alterações cromossômicas em cada tratamento e c = média das alterações cromossômicas no CN) [31].

2.3. Análise estatística

Os dados do bioensaio *A. cepa* em HM foram analisados através do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis com o teste “a posteriori” de Student-Newman-Keuls ($p < 0,05$), no programa BioEstat 5.3, para realizar a comparação entre as médias dos controles e tratamentos [32].

3. RESULTADOS

Ao analisar o índice mitótico (IM) foi observado que as menores concentrações (15 e 30 $\mu\text{g/mL}$) do HM não apresentaram diferença significativa do IM quando comparados ao CN, sendo consideradas não citotóxicas, enquanto nas maiores (45 e 60 $\mu\text{g/mL}$), houve uma redução do IM, mostrando efeito citotóxico (Tabela 1) com a redução significativa de prófases (Tabela 1).

No tratamento simultâneo, nenhuma das concentrações analisadas promoveu alteração significativa no IM em comparação ao MMS, enquanto no pré-tratamento, houve aumento significativo (15 e 30 $\mu\text{g/mL}$) do IM em relação ao MMS, sendo resultante do aumento significativo de metáfases e/ou anáfases, evidenciando o efeito citoprotetor nas menores concentrações. Já o pós-tratamento demonstrou efeito citoprotetor em todas as concentrações testadas, com elevação do número de prófases e/ou metáfases (Tabela 1).

A média total de alterações cromossômicas na menor concentração (15 $\mu\text{g/mL}$) apresentou aumento significativo em relação ao CN, mostrando efeito genotóxico. Enquanto, nas maiores concentrações (30, 45 e 60 $\mu\text{g/mL}$) não houve diferença do CN, não tendo efeito genotóxico do HM (Tabela 1).

Em relação as alterações cromossômicas individuais, houve aumento significativo apenas de micronúcleos (15 e 30 $\mu\text{g/mL}$), indicando ação mutagênica (Tabela 2). Diferentes alterações foram identificadas, como aderência cromossômica, ponte cromossômica, perda cromossômica, quebra cromossômica, C-metáfase, broto nuclear e micronúcleo (Figura 1).

Na análise do efeito quimioprotetor, observou-se redução da média total de alterações cromossômicas quando comparadas ao MMS em todas as concentrações (15 a 60 $\mu\text{g/mL}$) do simultâneo, pré-tratamento (30 e 60 $\mu\text{g/mL}$) e no pós-tratamento (45 e 60 $\mu\text{g/mL}$) (Tabela 1). O percentual de redução de danos (%RD) foi mais elevado no tratamento simultâneo, variando entre 86,59% a 97,77%, com destaque para as menores concentrações. No pré-tratamento, os valores variaram de 72,1% a 84,11%, enquanto no pós-tratamento a redução oscilou entre 38,78% a 80,44%, com os maiores percentuais nas maiores concentrações (Tabela 1).

Em relação às alterações cromossômicas analisadas individualmente, houve a redução significativa de MN no simultâneo, pré e pós-tratamento quando comparados ao MMS, mostrando o efeito genoprotetor do HM (Tabela 2).

Tabela 1. Índice Mitótico, média total de alterações cromossômicas e porcentagem de redução de danos (%RD) em células meristemáticas de *A. cepa* expostas ao Hidrato de Morina (HM).

Tratamento (µg/mL)	Fases da mitose (%) (Média ± DP)				Índice Mitótico (%) (Média ± DP)	Média Total das Alterações Cromossômicas (Média ± DP)	%RD
	Prófase	Metáfase	Anáfase	Telófase			
CN	17,90 ± 2,72	1,06 ± 0,69	0,56 ± 0,35	0,81 ± 0,35	20,33 ± 2,92	1,86 ± 1,74	
MMS	14,89 ± 1,66	0,04 ± 0,09	0,04 ± 0,09	0,08 ± 0,18	15,05 ± 1,40*	22,00 ± 10,08	
Genotóxico							
15	17,26 ± 2,18	0,55 ± 0,27	0,37 ± 0,13	1,5 ± 0,55	19,69 ± 2,70	6,70 ± 1,94*	-
30	14,54 ± 3,24	1,11 ± 0,47	0,75 ± 0,23	1,91 ± 0,68	18,30 ± 3,41	5,38 ± 1,72	-
45	13,18 ± 2,99*	0,80 ± 0,22	0,86 ± 0,39	0,90 ± 0,84	15,74 ± 3,26*	0,75 ± 0,79	-
60	12,87 ± 2,67*	0,55 ± 0,35	0,44 ± 0,43	0,73 ± 0,62	14,59 ± 3,34*	1,11 ± 1,50	-
Simultâneo							
15	14,94 ± 2,24	0,32 ± 0,53	0,13 ± 0,17	0,04 ± 0,08	15,40 ± 1,60	2,31 ± 1,01 ^{##}	97,77
30	15,34 ± 2,96	0,38 ± 0,29	0,13 ± 0,08	0,23 ± 0,18	16,12 ± 2,95	3,04 ± 2,03 ^{##}	94,14
45	14,82 ± 3,76	0,10 ± 0,09	0,12 ± 0,16	0,03 ± 0,07	15,09 ± 3,85	3,53 ± 2,30 [#]	91,71
60	11,81 ± 5,54	0,24 ± 0,20	0,04 ± 0,08	0,14 ± 0,23	12,25 ± 5,83	4,56 ± 3,76 [#]	86,59
Pré-Tratamento							
15	22,74 ± 4,07	0,40 ± 0,45 ^{##}	0,98 ± 0,53 ^{##}	0,22 ± 0,22	24,33 ± 4,39 ^{##}	7,46 ± 2,46	72,19
30	20,90 ± 5,16	0,52 ± 0,31 ^{##}	0,82 ± 0,38 ^{##}	0,33 ± 0,39	22,57 ± 4,68 ^{##}	5,06 ± 2,46 ^{##}	84,11
45	19,26 ± 5,44	1,85 ± 1,97 ^{##}	0,04 ± 0,09	0,74 ± 0,61	21,89 ± 3,15	8,20 ± 12,30 [#]	68,52
60	16,08 ± 3,93	0,68 ± 0,48 [#]	0,59 ± 0,45 [#]	0,33 ± 0,53	17,69 ± 4,16	6,41 ± 0,90 [#]	77,41
Pós-Tratamento							
15	25,27 ± 3,06 ^{##}	1,10 ± 1,28 [#]	0,30 ± 0,08	0,15 ± 0,21	30,70 ± 3,17 ^{##}	14,65 ± 6,55	38,78
30	26,37 ± 3,95 ^{##}	0,35 ± 0,40	0,11 ± 0,10	0,08 ± 0,11	26,91 ± 4,44 ^{##}	10,32 ± 1,33	57,99
45	26,71 ± 3,07 ^{##}	0,12 ± 0,11	0,08 ± 0,19	0,11 ± 0,10	27,03 ± 3,24 ^{##}	5,91 ± 3,49 ^{##}	79,89
60	26,09 ± 5,71 ^{##}	0,07 ± 0,10	0,11 ± 0,25	ND	26,28 ± 5,63 ^{##}	5,80 ± 1,83 ^{##}	80,44

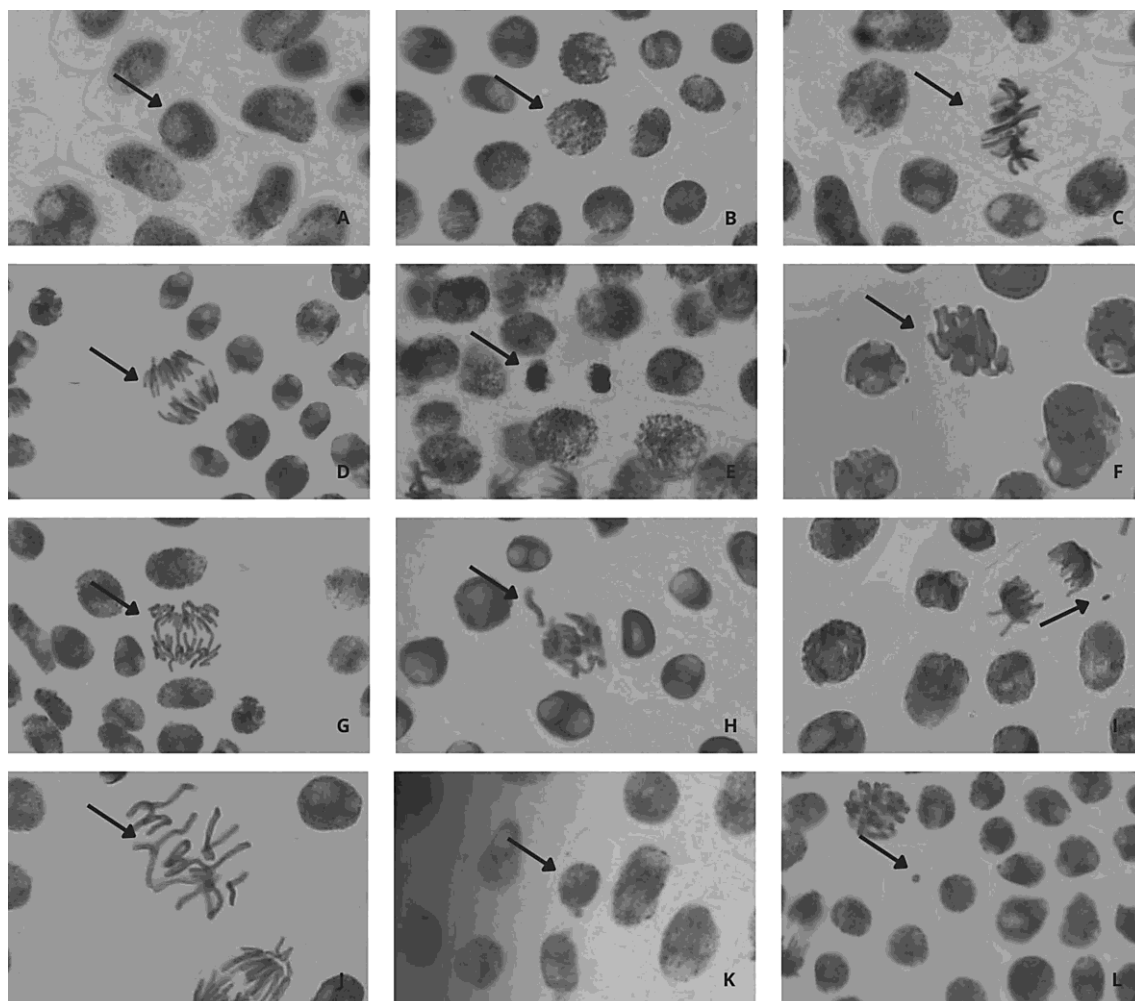
CN: Controle Negativo (Dimetilsulfóxido, DMSO 2%). MMS: Metanossulfonato de metila, 10 µg/ml (controle positivo). DP: Desvio-padrão. Tratamento-simultâneo: 24 h DMSO 2% + 24 h de associação do Hidrato de Morina (HM) e MMS. Pré-Tratamento: HM 24h + MMS 24 h. Pós-tratamento: MMS 24 h + 24 h de HM. *Comparação estatística com CN para avaliar a genotoxicidade e mutagenicidade. [#]Comparação estatística com o MMS para avaliar antigenotoxicidade. ^{*/#} Significativo pelo teste de Kruskal-Wallis com o teste de Student-Newman-Keuls a posteriori (^{*/#} p < 0,05; ^{**/#} p < 0,01). Os resultados referem-se à análise de 5.000 células por tratamento após 48h de exposição aos agentes testados.

Tabela 2. Alterações cromossômicas em células meristemáticas de *A. cepa* expostas ao Hidrato de Morina (HM).

Tratamento (µg/mL)	Alterações cromossômicas (Média ± DS)						
	MN	BN	QC	AC	CM	PC	PT
CN	0,31 ± 0,44	0,53 ± 0,79	ND	0,85 ± 1,10	0,16 ± 0,36	ND	ND
MMS + DMSO	21,01 ± 9,56	0,20 ± 0,45	0,19 ± 0,43	0,19 ± 0,43	ND	0,20 ± 0,45	0,20 ± 0,45
Genotóxico							
15	3,77 ± 2,31*	0,19 ± 0,43	ND	0,54 ± 0,79	0,56 ± 0,86	0,72 ± 0,98	0,39 ± 0,53
30	4,26 ± 1,92*	ND	ND	0,37 ± 0,51	0,57 ± 0,52	ND	0,18 ± 0,41
45	0,38 ± 0,51	0,19 ± 0,42	ND	ND	ND	ND	0,19 ± 0,42
60	1,11 ± 1,54	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Simultâneo							
15	1,60 ± 0,73 [#]	0,18 ± 0,39	0,18 ± 0,40	0,18 ± 0,40	ND	ND	0,18 ± 0,40
30	2,18 ± 1,65 [#]	0,17 ± 0,37	ND	0,17 ± 0,39	ND	ND	0,51 ± 0,47
45	2,86 ± 1,86 [#]	0,50 ± 0,74	ND	ND	ND	ND	0,17 ± 0,39
60	3,05 ± 2,95 [#]	0,70 ± 1,16	0,18 ± 0,40	0,71 ± 0,84	ND	0,17 ± 0,39	ND
Pré-tratamento							
15	3,41 ± 2,35	2,07 ± 1,89	0,46 ± 1,04	0,20 ± 0,45	0,23 ± 0,52	0,65 ± 0,59	0,43 ± 0,60
30	1,20 ± 1,10 ^{##}	1,82 ± 1,31	0,41 ± 0,56	0,41 ± 0,56	0,20 ± 0,44	0,39 ± 0,53	0,22 ± 0,49
45	4,73 ± 5,10	2,74 ± 5,62	ND	0,36 ± 0,82	ND	1,18 ± 0,41	ND
60	0,80 ± 0,84 ^{##}	3,59 ± 0,69 ^{##}	ND	1,22 ± 0,87	0,41 ± 0,56	0,19 ± 0,42	0,21 ± 0,47
Pós- tratamento							
15	13,86 ± 6,33	ND	ND	ND	ND	0,56 ± 0,52	0,23 ± 0,52
30	8,70 ± 3,84	1,02 ± 2,28	0,18 ± 0,41	ND	ND	0,20 ± 0,46	0,20 ± 0,45
45	4,78 ± 3,41 ^{##}	0,58 ± 0,53	ND	ND	ND	0,18 ± 0,41	0,19 ± 0,42
60	4,51 ± 1,64 ^{##}	ND	ND	ND	ND	0,37 ± 0,51	ND

CN: Controle negativo, dimetilsulfóxido 2% (DMSO 2%). MMS: Metanossulfonato de metila, 10 mg/mL (controle positivo). Tratamento-simultâneo: 24 h DMSO 2% + 24 h de associação do HM e MMS. Pré-Tratamento: HM 24h + MMS 24 h. Pós-tratamento: MMS 24 h + 24 h de HM. MN: Micronúcleo. BN: Broto nuclear. QC: Quebra cromossômica. AC: Aderência cromossômica. Cm: C-metáfase. PC: Perda cromossômica. PT: Ponte cromossômica. DS: Desvio padrão. *Comparação estatística com CN para avaliar a genotoxicidade e mutagenicidade. #Comparação estatística com o MMS para avaliar antigenotoxicidade. */#Significativo pelo teste de Kruskal-Wallis com o teste de Student-Newman-Keuls a posteriori (*# p < 0,05; **/## p < 0,01). Os resultados referem-se à análise de 5000 células por tratamento.

Figura 1. Diferentes fases mitóticas e alterações cromossômicas em células meristemáticas de *A. cepa*.



A: Intérfase; B: Prófase; C: Metáfase; D: Anáfase; E: Telofose; F: Aderência cromossômica; G: Ponte cromossômica; H: Perda cromossômica.; I: Quebra cromossômica; J: C-metáfase; K: Broto Nuclear; L: micronúcleo.

4. DISCUSSÃO

O uso de plantas medicinais representa uma prática no cuidado à saúde em diversos países. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), aproximadamente 75% da população mundial utiliza medicamentos de origem vegetal para tratar diferentes tipos de comorbidades. Isso se deve, principalmente, ao fato de serem produtos naturais de fácil acesso e baixo custo, tornando-se uma alternativa atrativa para a população em geral [18,32]. Diante deste cenário, torna-se evidente a importância de pesquisas que investiguem a ação de plantas medicinais, bem como de seus isolados, a fim de definir doses seguras e promover o desenvolvimento de novas terapias.

O HM foi citotóxico nas maiores concentrações (45 e 60 µg/mL) com a redução significativa de prófases. Um outro estudo indica que o HM pode ter interferido no processo de replicação do DNA e/ou bloqueando o G2, reduzindo a progressão do ciclo celular [33]. O resultado com a quercetina, um isômero da Morina, também mostrou bloqueio do ciclo celular nas fases G0 e G1, atribuído à ativação da proteína quinase Chk2 por causa do acúmulo da proteína p21 e à repressão da ciclina B1, uma proteína essencial para progressão do ciclo celular [34]. Resultado similar foi observado no ensaio colorimétrico *in vitro* com diferentes linhagens de células humanas de melanoma, sendo esse efeito maior com o aumento das concentrações (105,0 a 194,4 µg/mL) [35]. Por outro lado, no estudo de Zhang et al., o HM exibiu atividade anticancerígena, pois foi capaz de reduzir danos ao DNA mediante modulação das vias de sinalização responsáveis pela proliferação e diferenciação que poderiam resultar na parada do ciclo celular e apoptose [36].

No presente estudo as concentrações de 15 e 30 µg/mL não apresentaram efeito citotóxico em células de *A. cepa*. Resultado similar também foi observado *in vivo* em larvas de peixe-zebra nas concentrações de 20, 40, 60, 80 e 100 µM [37] e nas linhagens de células humanas de melanoma em menores concentrações (75 a 100 µg/mL) [35]. Ademais, todas as concentrações testadas do HM não resultaram em uma diminuição do índice mitótico (IM), inferior a 50%, indicando que não houve efeitos letais ou subletais nas células analisadas [38].

O efeito citoprotetor do HM no pré (15 e 30 µg/mL) e pós-tratamento (15 a 60 µg/mL) está relacionado com o aumento significativo de metáfases e anáfases ou de prófases, evidenciando que o HM interferiu no efeito citotóxico do MMS, impedindo a morte ou o dano celular [39,40]. Os biflavonoides, como o HM, ao reduzir os radicais livres, inibir a peroxidação lipídica, ter efeito anti-inflamatório e anticancerígenos, geralmente apresentam caráter citoprotetor [41].

Resultado similar foi observado em células de queratinócitos humanos expostas ao poluente atmosférico Particulate Matter (PM 2,5), conhecido por seu efeito carcinogênico [42]. Nesse estudo, observou-se que o HM, em concentrações de até 12 µg/mL, não apresentou citotoxicidade e demonstrou efeito citoprotetor. Um dos fatores que explicariam esse efeito seria a redução das espécies reativas de oxigênio (ROS), atribuída à atividade antioxidante da morina [43], uma vez que o MMS utilizado como controle positivo no presente estudo gera radicais livres que interferem na progressão do ciclo celular [44]. Testes antioxidantes realizados com DPPH e ABTS mostraram que o HM apresentou resultados potenciais entre 25 e 1.000 µg/mL [45], reforçando os resultados de proteção nas concentrações analisadas.

Ação antioxidante da Morina pode ocorrer de diferentes modos, como através da eliminação direta de radicais livres, tornando-os mais estáveis e menos reativos. Isso ocorre devido a presença do grupo hidroxila do HM, responsável por doar elétrons, que neutraliza os radicais livres. Além disso, a presença de um grupo catecol (duas hidroxilas vizinhas) no anel B, faz com que os flavonoides, como a HM, tenham facilidade em doar elétrons aos radicais livres, tornando estáveis. A presença de uma ligação dupla entre os carbonos 2 e 3 com o grupo oxo (C=O) na posição 4, age deslocando elétrons, contribuindo para a estabilização dos elétrons capturados dos radicais livres [2,46,47].

Deve-se ressaltar que nos testes de citogenotoxicidade e quimioproteção do HM, o controle negativo com o Dimetilsulfóxido (DMSO a 1%) não apresentou diferença significativa quando comparado ao controle de solvente (água destilada). Da mesma forma, os controles positivos MMS I (Metilmetanosulfonato dissolvido em DMSO 1%) e MMS II (Metilmetanosulfonato em

água destilada). Assim, os dados da água destilada e MMS II não foram incluídos nos resultados (Tabelas 1 e 2). Resultados similares já foram observados em outros estudos com células de *A. cepa* utilizando o DMSO como solvente [48,49,50,51,52].

A menor concentração (15 µg/mL) do HM foi genotóxica, assim como descrito por Tasso (2015) nas concentrações de 15,11 e 30,22 µg/mL, mas não foi citotóxica, evidenciando que danos podem comprometer a integridade do material genético sem necessariamente afetar a viabilidade celular. Resultado similar também foi observado para quercetina, que apresentou genotoxicidade nas menores concentrações [53,54]. Considerando que a quercetina é um flavonoide com estrutura química similar ao da Morina, é possível inferir que os mecanismos envolvidos na genotoxicidade observada no presente estudo sejam semelhantes aos descritos para a quercetina, que está relacionado à inibição da enzima topoisomerase II, fundamental para os processos de transcrição e replicação do DNA, o que pode resultar em quebras na estrutura do material genético [53]. Portanto, danos cromossômicos podem ter resultado na formação de MN observados no presente estudo. Por outro lado, o HM não foi genotóxico nas maiores concentrações, mostrando que os efeitos aneugênicos e/ou clastogênicos do HM não foram significativos nas células meristemáticas de *A. cepa*, não interferindo nos processos de condensação da cromatina, polimerização das fibras do fuso mitótico e/ou segregação mitótica. [23,49,52]

O HM apresentou efeito quimioprotetor em todas as concentrações do simultâneo e pré-tratamento (15 a 60 µg/mL) e no pós-tratamento (45 e 60 µg/mL) contra ação genotóxica do MMS, ao reduzir significativamente as alterações cromossômicas, especialmente no que se refere à formação de micronúcleos. Um estudo avaliou os efeitos antígeno-tóxicos do hidrato de Morina (15 a 60 µg/mL) contra danos genéticos induzidos por nitrato de chumbo em linfócitos humanos periféricos. As concentrações testadas (15 a 60 µg/mL) não apresentaram genotoxicidade e demonstraram efeito protetor significativo atribuído à atividade antioxidante da Morina e à sua capacidade de quelar metais pesados [55].

A quimioproteção pode ser dividida em desmutagenicas e bioantimutagênica. A primeira ocorre quando a substância é capaz de inativar química ou enzimaticamente um composto mutagênico ou os precursores desse, atuando preferencialmente no meio extracelular. Já a segunda atua na modulação do reparo e replicação do DNA, ao estimular o reparo de erros ou inibindo o sistema de reparo, caso este esteja danificado, agindo no meio intracelular (Oliveira, 2010 [25,56].

No pré-tratamento, o HM pode ter interagido diretamente com o MMS no ambiente intracelular em células de *A. cepa*. Para o simultâneo, a redução dos danos a célula pode ser resultado tanto da ação desmutagênica e bioantimutagênica [55]. No pós-tratamento, o HM também promoveu a redução nos danos induzida pelo MMS pela ação bioantimutagênica, que atua nos mecanismos de reparo do DNA, induzindo a reversão do efeito mutagênico e/ou impedindo a fixação de mutações [48, 49, 52, 57, 58]. No entanto, nas menores concentrações, o HM não foi eficiente em reparar os danos provocados pelo MMS, que podem estar associados com a menor atividade do isolado e/ou atuando na inibição de enzimas envolvidas com o reparo do DNA, como descritas por Dixon et al. (2015) [59], que comprovaram que o Hidrato de Morina inibiu ação da DNA glicosilase N-metilpurina (MPG), enzima de reparo, que pode aumentar a instabilidade genômica e assim contribuir para carcinogênese.

O MMS é um agente alquilante capaz de induzir danos ao DNA por meio de reações de alquilação e metilação. Essas reações resultam em quebras de fita dupla e bloqueio da forquilha de replicação [60]. Como também pode causar estresse oxidativo com acúmulo de espécies reativas de oxigênio (ROS), levando à morte celular e danos ao material genético [44]. O MMS é caracterizado por sua ação clastogênica (quebra do DNA) e/ou aneugênica (interferência no fuso mitótico), podendo provocar o surgimento, principalmente, de micronúcleos [61]. Provavelmente, o HM neutralizou ação do MMS pelos dois mecanismos mencionados, uma vez que ação genotóxica do MMS foi reduzida em todos os protocolos usados. Além disso, o HM também pode ter agido neutralizando os ROS decorrentes da ação do MMS, uma vez que possuem propriedades antioxidantes, neutralizando ação dos radicais livres [62, 63, 64]. Segundo pesquisas, o HM além de reduzir a geração de ROS (espécies reativas de oxigênio), é responsável por preservar os níveis de glutathiona (GSH) intracelular, uma molécula importante para a defesa celular contra a ação

oxidante, aumenta a atividade das enzimas antioxidantes como a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e a glutathione peroxidase (GPx) e inibe a peroxidação lipídica [65, 66].

5. CONCLUSÃO

No presente estudo, foi verificado a presença de doses citotóxicas, não genotóxicas e com relevante ação citoprotetora e genoprotetora, ocasionado principalmente pela ação antioxidante do HM. Tais achados, sugerem a relevância que o HM tem como potencial quimioprotetor para diferentes tipos de comorbidades, como o câncer. Todavia, ainda são necessários a realização de mais estudos, *in vivo* e *in vitro* para avaliar a segurança e a eficácia em diferentes modelos biológicos.

6. AGRADECIMENTOS

Agradeço à Universidade Estadual do Piauí (UESPI) e ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC-CNPq/PIBIC-UESPI), pelo incentivo à pesquisa.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Schiavo M, Schwambach KH, Colet Cde F. Knowledge about medicinal plants and phytotherapeutics among community health agents in Ijuí/RS. *Rev Pesq Cuid Fundam Online*. 2017;9(1):57–63.
2. Rajput SA, Wang XQ, Yan HC. Morin hydrate: A comprehensive review on novel natural dietary bioactive compound with versatile biological and pharmacological potential. *Biomed Pharmacother*. 2021;138:111511.
3. Melo CR, [et al](#). O uso de plantas medicinais para doenças parasitárias. *Acta Brasiliensis*. 2017;1(1):28.
4. Magalhães KN, Guarniz WAS, Sá KM, Freire AB, Monteiro MP, Nojosa RT, Bieski IGC, Custódio JB, Balogun SO, Bandeira MA. Medicinal plants of the Caatinga, northeastern Brazil: Ethnopharmacopeia (1980–1990) of late professor Francisco José de Abreu Matos. *J Ethnopharmacol*. 2019;237:314–353. doi:10.1016/j.jep.2019.03.032. PMID: 30885881. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30885881/>. Accessed April 19, 2025.
5. Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. *Clin Microbiol Rev*. 1999;12(4):564–582.
6. Pietta P, Mauri P. Analysis of flavonoids in medicinal plants. *Methods Enzymol*. 2001;335:26–45.
7. Lalani S, Poh CL. Flavonoids as antiviral agents for enterovirus A71 (EV-A71). *Viruses*. 2020;12(2).
8. Maleki SJ, Crespo JF, Cabanillas B. Anti-inflammatory effects of flavonoids. *Food Chem*. 2019;299(March):125124.
9. Nakabayashi R, [et al.]. Enhancement of oxidative and drought tolerance in Arabidopsis by overaccumulation of antioxidant flavonoids. *Plant J*. 2014;77(3):367–379.
10. Raffa D, Maggio B, Raimondi MV, et al. Recent discoveries of anticancer flavonoids. *Eur J Med Chem*. 2017;142:213–228.
11. Freire JS, Fernandes BCS, Silva JAC, Araújo JRS, Almeida PM, Júnior JSC, et al. Phytochemical and antioxidant characterization, cytogenotoxicity and antigenotoxicity of the fractions of the ethanolic extract of *Poincianella bracteosa* (Tul.) L.P. Queiroz. *J Toxicol Environ Health A*. 2020;83(23–24):730–747.
12. Oyenih AB, Smith C. Are polyphenol antioxidants at the root of medicinal plant anti-cancer success? *J Ethnopharmacol*. 2019;229:54–72.
13. Venu Gopal J. Morin Hydrate: Botanical origin, pharmacological activity and its applications: A mini-review. *Pharmacogn J*. 2013;5(3):123–126.
14. Yadav B, Vishwakarma V, Kumar S. Antigenotoxic effects of morin against lead induced genomic damage in cultured human peripheral blood lymphocytes. *J Food Biochem*. 2019;43(7):e12846.
15. Yu S, Zhang Y, Li X, et al. Morin protects LPS-induced mastitis via inhibiting NLRP3 inflammasome and NF-κB signaling pathways. *Inflammation*. 2020;43(4):1293–1303.
16. Singh MP, [et al.]. Morin hydrate reverses cisplatin resistance by impairing PARP1/HMGB1-dependent autophagy in hepatocellular carcinoma. *Cancers*. 2019;11(7).

17. Caselli A, [et al.]. Morin: A Promising Natural Drug. *Curr Med Chem*. 2016;23(8):774–791.
18. Zhang Y, Li X, Wang J, et al. The role of gut microbiota in the pathogenesis of rheumatoid arthritis: A systematic review. *Biomed Pharmacother*. 2021;140:111703.
19. Mollace V, [et al.]. Modulation of oxidative stress in health and disease. *Curr Pharm Des*. 2009;15(26):3063–3071.
20. Singh MP, Jakhar R, Kang SC. Morin hydrate attenuates the acrylamide-induced imbalance in antioxidant enzymes in a murine model. *Int J Mol Med*. 2015;36(4):992–1000.
21. Kim SH, Park JW. Morin hydrate attenuates CSE-induced lipid accumulation, ER stress, and oxidative stress in RPE cells: implications for age-related macular degeneration. *Free Radic Res*. 2019;53(8):865–874.
22. Hyun HB, [et al.]. The flavonoid morin from Moraceae induces apoptosis by modulation of Bcl-2 family members and Fas receptor in HCT 116 cells. *Int J Oncol*. 2015;46(6):2670–2678.
23. Bianchi J, Casimiro Fernandes TC, Marin-Morales MA. Induction of mitotic and chromosomal abnormalities on *Allium cepa* cells by pesticides imidacloprid and sulfentrazone and the mixture of them. *Chemosphere*. 2016;144:475–483.
24. Bagatini MD, Silva ACF, Tedesco SB. Use of the *Allium cepa* test system as a bioindicator of the genotoxicity of infusions of medicinal plants. *Rev Bras Farmacogn*. 2007;17(3):444–447.
25. Felicidade I, [et al.]. Mutagenic and antimutagenic effects of aqueous extract of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) on meristematic cells of *Allium cepa*. *Genet Mol Res*. 2014;13(4):9986–9996.
26. Gadano A, Gurni A, López P, Ferraro G, Carballo M. In vitro genotoxic evaluation of the medicinal plant *Chenopodium ambrosioides* L. *J Ethnopharmacol*. 2002;81(1–2):11–16.
27. Magosso MF, [et al.]. *Acrocomia aculeata* prevents toxicogenetic damage caused by the antitumor agent cyclophosphamide. *Genet Mol Res*. 2016;15(2)
28. Mauro MO, Pesarini JR, Marin-Morales MA, Monreal TFD, Morenal ACD, Mantovani MS, et al. Evaluation of the antimutagenic activity and mode of action of the fructooligosaccharide inulin in the meristematic cells of *Allium cepa* culture. *Genet Mol Res*. 2014;(13)
29. Rocha RS, [et al.]. Analysis of the anti-inflammatory and chemopreventive potential and description of the antimutagenic mode of action of the *Annona crassiflora* methanolic extract. *Pharm Biol*. 2016;54(1):35–47.
30. de Almeida PM, Silva JN, Freire JS, et al. Genotoxic potential of the latex from cotton-leaf physicnut (*Jatropha gossypifolia* L.). *Genet Mol Biol*. 2015;38(1):93–100.
31. Waters MD, Stack HF, Brady MA, et al. Antimutagenicity profiles for some model compounds. *Mutat Res/Rev Genet Toxicol*. 1990;238(1):57–85.
32. Ayres M, Ayres Júnior M, Ayres DL, Santos AS, editors. BioEstat 5.3: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biomédicas. Belém: Sociedade Civil Mamirauá; 2007. 364 p.
33. Sousa FM, Silva JN, Freitas SD, et al. Cytogenotoxic potential of *Terminalia actinophylla* (Mart.) bark in *Allium cepa* L. *Res Soc Dev*. 2020;9(9):e353997322.
34. Baus F, Gire V, Fisher D, Piette J, Dulic V. p21 Inhibits Cyclin B1-Cdk1 Complex Activation and Prevents Mitotic Entry in Response to DNA Damage in Normal Human Fibroblasts. *Mol Biol Cell*. 2003;14(10):3985–4000. doi:10.1091/mbc.e03-12-0871. PMID: 14551256; PMCID: PMC515331.
35. Cunha C, Marinho D, Ferreira B, Oliveira H, Daniel-da-Silva AL. Morin hydrate encapsulation and release from mesoporous silica nanoparticles for melanoma therapy. *Molecules*. 2023;28(12):4776. doi:10.3390/molecules28124776. PMID: 37375331. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37375331/>. Acesso em: 27 abr. 2025.
36. Zhang Q, Li Y, Wang X, et al. Molecular mechanism of anti-cancerous potential of morin extracted from mulberry in HeLa cells. *Food Chem Toxicol*. 2018;112:466–475.
37. Issac PK, Thomas J, Mathew S, et al. Oxidative stress induced antioxidant and neurotoxicity demonstrated in vivo zebrafish embryo or larval model and their normalization due to morin showing therapeutic implications. *Life Sci*. 2021;283:119864. DOI: 10.1016/j.lfs.2021.119864. PMID: 34275771.
38. Çelik TA, Aslantürk ÖS. Evaluation of cytotoxicity and genotoxicity of *Inula viscosa* leaf extracts with *Allium* test. *J Biomed Biotechnol*. 2010;2010:1–8. <https://doi.org/10.1155/2010/538624>
39. Fedel-Miyasato LES, Kassuya CAL, Auharek SA, et al. Evaluation of anti-inflammatory, immunomodulatory, chemopreventive and wound healing potentials from *Schinus terebinthifolius* methanolic extract. *J Ethnopharmacol*. 2014;157:238–246. doi:10.1016/j.jep.2014.09.003. PMID: 25220023.
40. Matsui A, [et al.]. Oxidation resistance 1 functions in the maintenance of cellular survival and genome stability in response to oxidative stress-independent DNA damage. *Genes Environ*. 2020;42(1):1–6. <https://doi.org/10.1186/s41021-020-00153-z>

41. Kampa RP, [et al.]. Cytoprotective effects of the flavonoid quercetin by activating mitochondrial BKCa channels in endothelial cells. *Biomed Pharmacother* . 2021;142:112039. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112039>
42. Yu P, Abramson MJ, et al. Cancer mortality risk from short-term PM2.5 exposure and temporal variations in Brazil. *J Hazard Mater* . 2024;473:134606. doi:10.1016/j.jhazmat.2024.134606. PMID: 38788590. Acesso em 29 abr 2025. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38788590/>
43. Herath HMLU, Piao MJ, Kang KA, Fernando PDSM, Hyun CL, Cho SJ, Hyun JW. The mitigation mechanism of morin on PM2.5-induced apoptosis by inhibiting mitochondrial damage via the ROS/ERK signaling pathway in human HaCaT keratinocytes. *Int J Environ Health Res* . 2025:1–16. doi:10.1080/09603123.2025.2472999. PMID: 40069592. Acesso em 27 abr 2025. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40069592/>
44. Jiang Y, Zhang Y, Li J, et al. Methyl methanesulfonate induces necroptosis in human lung adenoma A549 cells through the PIG-3-reactive oxygen species pathway. *Tumour Biol* . 2016;37(3):3785–3795. doi:10.1007/s13277-015-4075-2. PMID: 26475365.
45. Yang JY, Lee HS. Evaluation of antioxidant and antibacterial activities of morin isolated from mulberry fruits (*Morus alba* L.). *Appl Biol Chem* . 2012;55(4):485–489. doi:10.1007/s13765-012-2124-1.
46. Li J, Sun M, Cui X, Li C. Protective Effects of Flavonoids against Alzheimer's Disease: Pathological Hypothesis, Potential Targets, and Structure–Activity Relationship. *Int J Mol Sci* . 2022;23(17):10020. DOI:10.3390/ijms231710020. Acesso em 8 abr 2025. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/23/17/10020>
47. Sies H, Berndt C, Jones DP. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Oxid Med Cell Longev* . 2020;2020:1–20. doi:10.1155/2020/7564928. PMID: 32351664; PMCID: PMC7188227.
48. Pereira ML, Monteiro CN, Siqueira CFN, Ribeiro MS, Lopes AP, Sousa RMS, Oliveira MDA, Júnior JSC, Martins FA, Almeida PM. Evaluation of effects of *Poincianella bracteosa* (Tul.) L.P. Queiroz leaves in *Allium cepa* and *Mus musculus* . *Biotech Histochem* . 2020;95(6):464–473. <https://doi.org/10.1080/10520295.2019.1690678>
49. Couto ACF, Silva MRA, Almeida FG, et al. Antimutagenic activity and identification of antioxidant compounds in the plant *Poincianella bracteosa* (Fabaceae). *Rev Biol Trop* . 2019;67(6):1103–1113. DOI:10.15517/rbt.v67i6.33883.
50. Lopes KS, Silva Júnior JA, Almeida MN, et al. Identification of bioactive compounds and cytogenotoxicity of the essential oil from the leaves of *Croton heliotropiifolius* Kunth. *J Toxicol Environ Health A* . 2022;85(20):1002–1018. doi:10.1080/15287394.2022.2146618. PMID: 36454321.
51. Anacleto LR, Roberto MM, Marin-Morales MA. Toxicological effects of the waste of the sugarcane industry, used as agricultural fertilizer, on the test system *Allium cepa* . *Chemosphere* . 2017;173:31–42. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.12.125>
52. Dias MS, Silva MRA, Xavier CAF, et al. Cytogenotoxicity and protective effect of piperine and capsaicin on meristematic cells of *Allium cepa* L. *An Acad Bras Cienc* . 2021;93:e20201772. DOI:10.1590/0001-3765202120201772. PMID: 34643624.
53. Gaspar J, [et al.]. On the mechanisms of genotoxicity and metabolism of quercetin. *Mutagenesis* . 1994;9(5):445–449. <https://doi.org/10.1093/mutage/9.5.445>
54. Rauf A, Imran M, Butt MS, Nadeem M, Peters DG, Tsouh Fokou PV, et al. Anticancer potential of quercetin: a comprehensive review. *Phytother Res* . 2018;32(11):2109–2130. PMID: 30039547. <https://doi.org/10.1002/ptr.6155>
55. Yadav B, Vishwakarma V, Kumar S. Antigenotoxic effects of morin against lead-induced genomic damage in cultured human peripheral blood lymphocytes. *J Food Biochem* . 2019;43(7):e12914. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12914>
56. Kada T, Inoue T, Namiki N. Desmutágenos e antimutágenos ambientais. In: Klekowski EJ, editor. *Mutagênese ambiental e biologia vegetal* . Nova Iorque: Praeger; 1982. p. 137–51.
57. Nantes CI, [et al.]. Evaluation of the antimutagenic activity and mode of action of carrageenan fiber in cultured meristematic cells of *Allium cepa* . *Genet Mol Res* . 2014;13(4):9523–9532.
58. Dametto AC, da Silva EP, de Andrade Siqueira JM, Pansera Nogueira A, Varella RM, Molinillo JMG, et al. Chemical composition and in vitro chemopreventive assessment of *Eugenia jambolana* Lam. (Myrtaceae) fruits and leaves. *J Funct Foods* . 2017;36:490–502. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.07.008>
59. Dixon M, [et al.]. Naturally occurring polyphenol, morin hydrate, inhibits enzymatic activity of N-methylpurine DNA glycosylase, a DNA repair enzyme with various roles in human disease. *Bioorg Med Chem* . 2015;23(5):1102–1111. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2015.01.027>
60. Chatterjee N, Walker GC. Mechanisms of DNA damage, repair, and mutagenesis. *Environ Mol Mutagen* . 2017;58(5):235–263. <https://doi.org/10.1002/em.22087>

61. Bianchi J. Analysis of cytotoxic, genotoxic and mutagenic effects of the insecticide malathion using the *Allium cepa* test system and mammalian cells [dissertation]. Rio Claro: Universidade Estadual Paulista (UNESP); 2008. Available from: <https://repositorio.unesp.br/server/api/core/bitstreams/0d05b8e7-7d67-4ba9-a4f5-ac3c90131822/content>. Accessed April 13, 2025.
62. Airanthi MK, Hosokawa M, Miyashita K. Comparative antioxidant activity of edible Japanese brown seaweeds. *J Food Sci*. 2011;76(1):C104–C111. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01953.x>
63. Dantas LVB, Lopes FFDS, Alves DR, Frota LS, Cardoso ALH, Morais SMD. Avaliação fitoquímica, quantificação de fenóis e flavonóides totais, atividade antioxidante e antiacetilcolinesterase do extrato etanólico da *Talisia esculenta* (Pitomba). *Braz J Dev*. 2020;6(8):60597–60602.
64. Teles AM, Everton GO, Mouchrek AN, Tellis CJM, Bezerra GFB, Souza FA, Santos APSA, Nascimento MDSB. Triagem fitoquímica de extrato obtido do fungo *Penicillium purpurogenum* advindo de ambiente marinho poluído do Maranhão. *Res Soc Dev*. 2020;9(8):e4398206753. <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i8.6753>
65. Campos-Esparza MR, Sánchez-Gómez MV, Matute C. Molecular mechanisms of neuroprotection by two natural antioxidant polyphenols. *Cell Calcium*. 2009 Apr;45(4):358–68. doi: [10.1016/j.ceca.2008.12.007](https://doi.org/10.1016/j.ceca.2008.12.007).
66. Sreedharan V, Venkatachalam KK, Namasivayam N. Effect of morin on tissue lipid peroxidation and antioxidant status in 1, 2-dimethylhydrazine induced experimental colon carcinogenesis. *Investig New Drugs*. 2009;27(1):21–30. doi: 10.1007/s10637-008-9136-1.