



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

TESE DE DOUTORADO

**LECTINA COAGULANTE DE *Moringa oleifera* (cMoL): CITOTOXICIDADE,
TOXICIDADE DÉRMICA, EFEITO ANTI-INFECCIOSO IN VIVO E
INCORPORAÇÃO EM MEMBRANA A BASE DE GALACTOMANANA**

SIMEONE JÚLIO DOS SANTOS CASTELO BRANCO

Recife
2025

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

SIMEONE JÚLIO DOS SANTOS CASTELO BRANCO

**LECTINA COAGULANTE DE *Moringa oleifera* (cMoL): CITOTOXICIDADE,
TOXICIDADE DÉRMICA, EFEITO ANTI-INFECCIOSO IN VIVO E
INCORPORAÇÃO EM MEMBRANA A BASE DE GALACTOMANANA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de doutor em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof^a Dr^a. Patrícia Maria Guedes Paiva

Coorientador: Prof. Dr. Luís Claudio Nascimento da Silva

Recife

2025

Catálogo de Publicação na Fonte. UFPE - Biblioteca Central

Castelo Branco, Simeone Julio dos Santos.

Lectina coagulante de Moringa oleifera (cMoL): citotoxicidade, toxicidade dérmica, efeito anti-infeccioso in vivo e incorporação em membrana a base de Galactomanana / Simeone Julio Dos Santos Castelo Branco. - Recife, 2025.

105f.: il.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, 2025.

Orientação: Patrícia Maria Guedes Paiva.

Coorientação: Luís Claudio Nascimento da Silva.

Inclui referências.

1. Galactomanana; 2. Proteína; 3. Filmes. I. Paiva, Patrícia Maria Guedes. II. Silva, Luís Claudio Nascimento da. III. Título.

UFPE-Biblioteca Central

SIMEONE JÚLIO DOS SANTOS CASTELO BRANCO

LECTINA COAGULANTE DE *Moringa oleifera* (cMoL): CITOTOXICIDADE,
TOXICIDADE DÉRMICA, EFEITO ANTI-INFECCIOSO IN VIVO E
INCORPORAÇÃO EM MEMBRANA A BASE DE GALACTOMANANA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Ciências Biológicas da Universidade Federal de
Pernambuco, como requisito parcial para a
obtenção do título de doutor em Ciências Biológicas

Aprovada em: 31 de março de 2025

BANCA EXAMINADORA

Patrícia Maria Guedes Paiva

Luana Cassandra Breitenbach Barroso Coelho

Thiago Henrique Napoleao

Suéllen Pedrosa da Silva

Robson Raion de Vasconcelos Alves

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me dar todo o suporte, tanto físico quanto espiritual, para vencer todos os obstáculos, por me dar direção nas minhas escolhas, e por me conduzir até o fim dessa caminhada que foi Doutorado.

Aos meus pais e à toda minha família, que foram peças fundamentais nesse meu processo de formação e por sempre estarem do meu lado em todos meus erros e acertos, por terem me incentivado e sempre acreditado nos meus sonhos.

A minha orientadora, Prof. Dra. Patrícia Paiva, por todos os ensinamentos e orientação. Sem o seu carinho pela pesquisa e todo seu esforço dedicado a esse projeto.

Ao meu coorientador Prof. Dr. Luís Cláudio, por sempre acreditar em mim, por ter me proporcionado crescer tanto na pesquisa, e por abrir não só essas portas, mas também por ter me apresentado sua família, que hoje em dia posso dizer que são minha família pernambucana.

Aos alunos de iniciação científica, mestrado e doutorado da Universidade CEUMA, em especial Lucas, Izadora, Mauro e Vitor, por toda ajuda e por terem se tornado amigos que quero levar sempre no meu coração.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, por todo o conhecimento adquirido, conhecimentos esses que me ajudaram bastante tanto na minha formação profissional, quanto pessoal.

A todos os meus colegas e amigos pesquisadores do Laboratório de Patogenicidade Microbiana - LAPMIC, por serem de fundamental importância no desenvolvimento desse trabalho e por todo companheirismo em todos os momentos juntos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de doutorado.

E por fim, não menos importante, agradecer a mim por nunca desistir dos meus sonhos mesmo em momentos em que nada parecia dar certo.

Sonhos determinam o que você quer. A  o
determina o que você conquista.

Aldo Novak

Dedico este trabalho primeiramente a Deus por me dar direção e a oportunidade de chegar até aqui, e aos meus familiares por todo apoio e confiança nessa longa jornada.

RESUMO

Este estudo descreve a citotoxicidade em células epiteliais, toxicidade dérmica e efeito anti-infeccioso *in vivo* da lectina coagulante de *Moringa oleifera* (cMoL). Também reporta o desenvolvimento e caracterização de filmes a base de galactomanana contendo cMoL. Células HEK-293 foram incubadas por 24 horas com cMoL (3,125–100 µg/mL). No ensaio de toxicidade dérmica, os camundongos tratados topicamente com dose única (200 µg/mL) de cMoL foram analisados por 14 dias. O ensaio de atividade anti-infecciosa de cMoL (100 - 200 µg/mL) usou larvas de *Tenebrio molitor* infectadas ou não com *Staphylococcus aureus*. cMoL não foi citotóxica para HEK-293 sendo detectado 94,65% de viabilidade celular. No ensaio de toxicidade dérmica, não ocorreu mortalidade, intoxicação ou alteração no comportamento ou nos parâmetros bioquímicos e hematológicos e padrão histológico. A lectina cMoL não apresentou toxicidade para larvas de *T. molitor*, e, no tratamento profilático, a concentração de 100 µg/mL aumentou a sobrevivência das larvas infectadas em cerca de um dia. No tratamento pós-infecção, a concentração de 200 µg/mL prolongou a sobrevivência em um dia. Os filmes desenvolvidos a base de galactomanana contendo 100 e 200 µg/mL de cMoL foram analisados quanto as características morfológicas, mecânicas e físico-químicas (espessura, umidade, rugosidade, cor e pH), hemocompatibilidade e toxicidade em células Vero. O filme de galactomanana incorporou cMoL sem alterações significativas em suas propriedades físico-químicas e mecânicas, foi hemocompatível e não apresentou toxicidade para células Vero (viabilidade celular acima de 90% e próxima a 70%, após 24 e 48 horas, respectivamente). O estudo revelou que cMoL não é citotóxica para nenhuma das linhagens testadas (HEK-293 e VERO CCL-85), que a administração tópica da lectina na dose de 200 µg/mL é segura, que cMoL tem efeito anti-infeccioso *in vivo* e que o filme contendo cMoL, pode ser uma alternativa promissora de curativo para cicatrização de ferida.

Palavras-chave; Galactomanana, Proteína, Filmes, Cicatrização.

ABSTRACT

This study describes the cytotoxicity in epithelial cells, dermal toxicity and in vivo anti-infective effect of the coagulant lectin from *Moringa oleifera* (cMoL). It also reports the development and characterization of galactomannan-based films containing cMoL. HEK-293 cells were incubated for 24 h with cMoL (3.125–100 µg/mL). In the dermal toxicity assay, mice topically treated with a single dose (200 µg/mL) of cMoL were analyzed for 14 days. The anti-infective activity assay of cMoL (100–200 µg/mL) used *Tenebrio molitor* larvae infected or not with *Staphylococcus aureus*. cMoL was not cytotoxic to HEK-293, with 94.65% cell viability detected. In the dermal toxicity assay, there was no mortality, intoxication or change in behavior or in biochemical and hematological parameters and histological pattern. The cMoL lectin did not show toxicity to *T. molitor* larvae, and, in the prophylactic treatment, the concentration of 100 µg/mL increased the survival of infected larvae by approximately one day. In the post-infection treatment, the concentration of 200 µg/mL prolonged survival by one day. The films developed based on galactomannan containing 100 and 200 µg/mL of cMoL were analyzed for morphological, mechanical and physicochemical characteristics (thickness, moisture, roughness, color and pH), hemocompatibility and toxicity in Vero cells. The galactomannan film incorporated cMoL without significant changes in its physicochemical and mechanical properties, was hemocompatible and did not present toxicity to Vero cells (cell viability above 90% and close to 70%, after 24 and 48 hours, respectively). The study revealed that cMoL is not cytotoxic to any of the tested cell lines (HEK-293 and VERO CCL-85), that topical administration of the lectin at a dose of 200 µg/mL is safe, that cMoL has an anti-infective effect in vivo and that the film containing cMoL may be a promising alternative dressing for wound healing.

Key words; Galactomannan, Protein, Films, Healing.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Representação esquemática das principais estruturas da pele (SILVA et al., 2024)	21
Figura 2: Diferentes fases da cicatrização (BEZERRA, 2021)	25
Figura 3: Representação esquemática da ligação da lectina a um carboidrato (A). As setas representam pontes de hidrogênio e outras forças envolvidas a ligação (BREITENBACH; COELHO, 2017)	33
Figura 4: Ensaio de hemaglutinação e de inibição da hemaglutinação em placas de microtitulação. Os círculos mostram representações esquemáticas da rede de eritrócitos formada pela lectina (A) e inibição da atividade hemaglutinante por carboidratos livres (B). Fonte: PAIVA et al. (2013)	34
Figura 5: Classificação de lectinas de planta (CASTELO BRANCO, 2021)	37
Figura 6: Estrutura química da Goma Guar (GG) (FERREIRA, 2024)	39

ARTIGO 1

Figura 1: Viabilidade de células da linhagem HEK-293 incubadas em diferentes concentrações de cMoL. As colunas representam a média $\pm$ DP (n = 4). (-) Controle negativo; (+) Controle positivo de necrose (Dimetilsulfóxido 10%); cMoL - lectina coagulante de sementes de <i>M. oleifera</i>	48
Figura 2: Avaliação macroscópica da área de aplicação tópica de NaCl 0,15 M (grupo controle) e cMoL (200 μ g/mL)	54
Figura 3: Cortes histológicos da pele de animais dos grupos controle ou tratados dermicamente com dose única de cMoL (200 μ g/mL). Nenhum sinal de degeneração, necrose/inflamação ou outras alterações foram encontrados. Coloração de hematoxilina-eosina e Tricrômico de Masson foi usada. Ampliação: 100x	55
Figura 4: Cortes histológicos do fígado, rim, baço e coração de animais dos grupos controle ou tratado com uma dose única de cMoL (200 μ g/mL). Fígados: a veia centrolobular (VC) é vista em todas as imagens. Rim: Glomérulos renais (GR) são preservados e ordenados. Baço: Os linfonodos (ND) são bem definidos nos grupos controle e tratado. Fibras musculares cardíacas bem definidas nos	

grupos controle e tratado. Nenhum sinal de degeneração, necrose/inflamação ou outras alterações foram encontrados. Coloração de hematoxilina-eosina foi usada. Ampliação: 100x 57

Figura 5: Cortes histológicos do fígado, rim, baço e coração de animais dos grupos controle ou tratados com dose única de cMoL (200 µg/mL). Nenhum sinal de degeneração, necrose/inflamação ou outras alterações foram encontrados. Coloração de Tricrômico de Masson foi usada. Ampliação: 100x 58

Figura 6: Avaliação dos efeitos anti-infecciosos da lectina cMoL contra infecção por *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 em larvas de *Tenebrio molitor* 60

ARTIGO 2

Figura 1: Avaliação de peso e espessura dos filmes a base de galactomanana..... 73

Figura 2: Avaliação da porcentagem de perda de umidade dos filmes a base de galactomanana submetidos a temperatura corporal 74

Figura 3: Análise geral de filmes bioadesivos à base de goma de guar, sem a incorporação de cMoL (controle) ou incorporados com 100 e 200 µg/mL da lectina. A e b) Aspectos macroscópicos; c) Micromorfologia de superfície (Barra de escala: 200 µm; ampliação de 500x) 77

Figura 4: Análise da rugosidade de diferentes filmes à base de galactomanana.....78

Figura 5: Avaliação do intumescimento de diferentes filmes à base de galactomanana 80

Figura 6: Atividade hemolítica relativa de diferentes concentrações da lectina coagulante de sementes de *Moringa oleífera* (cMoL)..... 81

Figura 7: Viabilidade de células da linhagem Vero - CCL 85 incubadas em filmes contendo diferentes concentrações de cMoL. As colunas representam a média ± DP (n = 4). (-) Controle negativo; (+) Controle positivo de necrose (Dimetilsulfóxido 10%); cMoL - lectina coagulante de sementes de *M. oleífera* 82

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1

Tabela. 01. Viabilidade/mortalidade de células da linhagem HEK-293 incubadas em diferentes concentrações de cMoL	49
Tabela 2. Ganho de peso corporal e consumo de alimentos de camundongos dos grupos controle e tratados topicamente com dose única (200 µg/mL) de cMoL, após 14 dias	49
Tabela 3. Peso relativo do órgão (g/100 g de peso corporal) de camundongos dos grupos controle e tratados topicamente com dose única (200 µg/mL) de cMoL, após 14 dias	50
Tabela 4. Parâmetros bioquímicos do sangue de camundongos dos grupos controle e tratados topicamente com dose única (200 µg/mL) de cMoL.....	51
Tabela 5. Parâmetros hematológicos de camundongos dos grupos controle e tratados topicamente com dose única (200 µg/mL) de cMoL.....	52
Tabela 6. Pontuação de eritema e edema de camundongos dos grupos controle e tratados topicamente com dose única (200 µg/mL) de cMoL.....	53
Tabela 7. Avaliação do crescimento de pelos em camundongos dos grupos controle e tratados topicamente com dose única (200 µg/mL) de cMoL	54

ARTIGO 2

Tabela 1. Análise das propriedades mecânicas de diferentes filmes à base de galactomanana	76
Tabela 2. Análise de parâmetros de coloração de diferentes filmes à base de galactomanana	79

LISTA DE SIGLAS E ABREVIações

ATCC - Código Químico Terapêutico Anatômico

cMoL - Lectina isolada das sementes de *Moringa oleífera*

DEMEM- Meio Eagle Modificado de Dulbecco

DMSO - Dimetilsulfóxido

EUA - Estados Unidos da América

GG - Goma de Guar

HA - Ácido hialurônico

HEK-293 - Células de rim de embrião humano

H&E- Hematoxilina e Eosina

IL-6 - Interleucina 6

MCP-1- Citocina pró-inflamatória

MEC - Matriz extracelular

MMPs - Metaloproteinases

PBMCs - Células mononucleares do sangue periférico humano

PBS - Solução salina tamponada com fosfato

PDGF - Fator de crescimento epidérmico

SDS PAGE – Eletroforese em gel de poliacrilamida com dodecil-sufato de sódio

TGF- β - Fator de crescimento transformador- β

TNF-alfa- Fator de necrose tumoral

UV - Raio ultravioleta

UVB - Raio ultravioleta B

Vero CCL-81 - Células de rim de macaco

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	OBJETIVOS	19
2.1	OBJETIVO GERAL	19
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
3	REFERENCIAL TEÓRICO.....	20
3.1	Pele.....	20
3.2.1	Fase Inflamatória	23
3.2.2	Fase Proliferativa	24
3.2.3	Fase Remodelação.....	25
3.3	Feridas Crônicas e seus agravos	27
3.4	Filmes Curativos	29
3.5	<i>Moringa Oleífera</i>	30
3.6	Aplicações da <i>Moringa oleífera</i>	31
3.7	Lectinas.....	32
3.7.1	Purificação e caracterização de lectinas.....	35
3.7.2	Classificação de Lectinas	37
3.8	Lectina cMol.....	38
3.9	Goma Guar	39
4	rESULTADOS E DISCUSSÃO	42
4.1	ARTIGO 1	42
1	INTRODUÇÃO.....	43
2	MATERIAIS E MÉTODOS	45
2.1	Isolamento da lectina coagulante de sementes de <i>Moringa oleífera</i> (cMoL).	45
2.2	Ensaio de viabilidade celular	45

2.2.1	Cultura	45
2.2.2	Ensaio de citotoxicidade	46
2.3	Ensaio de toxicidade dérmica.....	46
2.4	Modelo de infecção usando larvas <i>Tenebrio molitor</i>	48
2.5	Análise Estatística	48
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	49
3.1	Toxicidade cMoL	49
3.1.1	Ensaio de citotoxicidade	49
3.2	Ensaio de toxicidade dérmica.....	50
3.3	Sobrevivência de larvas de <i>Tenebrio molitor</i> infectadas ou não com <i>Staphylococcus aureus</i> tratadas com cMoL	61
4.	CONCLUSÃO.....	63
	REFERENCIAS	64
4.2	ARTIGO 2.....	67
1	INTRODUÇÃO.....	68
2.	MATERIAIS E MÉTODOS	70
2.1	Desenvolvimento e caracterização do filme a base de Galactomanana	70
2.1.1	Preparação de filmes bioadesivos contendo cMoL	70
2.1.2	Testes físico-químicos	70
2.2	Propriedades mecânicas	73
2.2	Ensaio de citotoxicidade	73
2.3	Análise Estatística	74
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	74
3.1	Caracterização de filme a base de galactomanana	74
3.1.1	Peso e espessura dos filmes	75
3.1.2	Umidade	76

3.1.3	Propriedade mecânicas do filme.....	77
3.1.4	Microscopia de varredura eletrônica (MEV)	79
3.1.5	Rugosidade.....	79
3.1.6	Cor	80
3.1.7	Intumescimento.....	81
3.1.9	Citotoxicidade dos filmes a base de galactomanana	84
4	CONCLUSÃO.....	86
	REFERÊNCIAS	87
5.	Conclusão	89
	SÚMULA CURRICULAR.....	90
	REFERÊNCIAS	95

1 INTRODUÇÃO

As doenças de pele são um problema crescente em todo o mundo (MARTINENGO et al., 2019). As feridas crônicas, na sua grande maioria são definidas como lesões que não cicatrizam no prazo esperado, normalmente entre 1 a 3 meses, sendo considerado um grande desafio, mas pouco reconhecido, para a saúde pública. Sua prevalência é comparada à insuficiência cardíaca, e é uma doença que afeta milhões de pessoas em todo mundo (CHO et al., 2020).

Pacientes com feridas crônicas além dos danos físicos, geralmente sofrem perda de produtividade, sofrimento psicológico, diminuição da qualidade de vida e redução da expectativa de vida (SNYDER; FIFE; MOORE, 2016). Assim sendo, no sentido de tratar e cuidar dessas feridas, há um grande esforço no desenvolvimento de curativos inteligentes minimamente invasivos que além de serem uma barreira física, podem integrar liberação de medicamentos com diferentes alvos terapêuticos como antibióticos, agentes anti-inflamatórios e analgésicos ajudando assim no tratamento (DONG; GUO, 2021).

Esses curativos inteligentes têm surgido para fornecer uma nova estratégia para o controle de feridas. Como o nome indica, curativos inteligentes são uma série de curativos que podem interagir com as feridas, sentir e reagir à condição da ferida ou à mudança do ambiente, por meio de sensores embutidos, como materiais responsivos a estímulos ou materiais que irão levar a autocura (MONAVARIAN et al., 2019). No processo de cicatrização de uma ferida acontecem vários processos, e cada estágio mostra suas características específicas e processo fisiológico, sendo necessárias estratégias e métodos para que esses processos aconteçam adequadamente para o processo de regeneração tecidual (RODRIGUES et al., 2019a).

Diante do impacto que as lesões cutâneas causam sobre os aspectos de saúde e socioeconômicos dos pacientes, tem-se buscado estratégias visando a obtenção de compostos cicatrizantes e o desenvolvimento de novas formulações (ASHTIKAR; WACKER, 2018). Um exemplo é o desenvolvimento de filmes à base de polissacarídeos que são formulações à base de biopolímeros, como

goma guar, que têm se mostrado uma boa opção, devido a sua elevada eficácia e o baixo custo associado (LIU et al., 2020).

A goma de guar é um polímero rico em galactomanana, obtida do endosperma de *Cyamopsis tetragonolobus* ou *Cyamopsis psoraloide*, tem alto peso molecular com uma aparência branco amarelada, e nas plantas atua como reserva de nutrientes para o embrião durante a germinação (SHARMA et al., 2018). É um polissacarídeo de enorme aplicabilidade na indústria biomédica, farmacêutica, alimentícia e cosmética (MADNI et al., 2020).

A incorporação de substâncias ativas em formulações representa uma importante alternativa terapêutica no tratamento de feridas. Assim, promissores agentes antimicrobianos/cicatrizantes, são proteínas encontradas nas sementes de *M. oleífera*, dentre elas está a lectina cMoL (Coagulant *M. oleífera* Lectin) constituída por uma proteína monomérica com peso aproximado de 26,5 kDa (SANTOS et al., 2009). Em estudos realizados com a cMoL a proteína apresentou uma atividade inseticida contra *Anagasta kuehniella* (DE OLIVEIRA et al., 2011). Apresentou também um efeito inibitório sobre a enzima superóxido dismutase de larvas de *Aedes aegypti* resistentes (AGRA-NETO et al., 2014). A lectina cMoL também possui ótimos resultados fungistáticos contra cepas de *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii* e inibindo também a formação de biofilme de *C. neoformans* (SILVA, 2023).

Além disso, foi observado também uma atividade citotóxica contra a linhagem cancerígena B16-F10 (melanoma murino) (DE ANDRADE et al., 2017). Em estudos de genotoxicidade de cMoL a lectina não apresentou nenhuma atividade genotóxica significativa e nem efeitos tóxicos para células PBMCs (BARROS et al., 2021).

Estes resultados de estudos in vitro e in vivo nos estimulam a explorar o potencial farmacológico da cMoL no desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos e cicatrizantes. No entanto, é essencial o estudo destas formulações em diferentes modelos experimentais de feridas. Neste sentido, o presente trabalho visou avaliar os efeitos tóxicos e anti-infeccioso da cMoL e desenvolver uma membrana a base de galactomanana contendo cMoL.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a citotoxicidade, toxicidade dérmica e efeito anti-infeccioso da lectina coagulante de sementes de *Moringa oleifera* (cMoL) e desenvolver membrana à base de galactomanana contendo cMoL.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Isolar a lectina das sementes de *M. oleifera* (cMoL) de acordo com procedimento previamente estabelecido;
- Avaliar a citotoxicidade de cMoL em células HEK-293;
- Avaliar a toxicidade dérmica em camundongos de cMoL;
- Determinar o efeito de cMoL em larvas de *Tenebrio molitor* infectadas ou não com *Staphylococcus aureus*;
- Desenvolver e caracterizar filmes a base de galactomanana contendo cMoL.
- Avaliar a hematocompatibilidade e citotoxicidade de filmes de galactomanana contendo cMoL em linhagens de células Vero - CCL 85

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Pele

A pele para a maioria dos vertebrados, é a camada mais externa do corpo e age como uma barreira de proteção primária contra agentes externos, como calor, luz, infecções e lesões (PISSARENKO; MEYERS, 2021). A pele também é considerada uma interface importante com o nosso ambiente, hospedando uma infinidade de sensores, glândulas, canais e poros que permitem aos organismos sentir toque, calor, dor, regular a temperatura corporal e a higrometria (“Principles of Anatomy and Physiology - Gerard J. Tortora, Bryan H. Derrickson - Google Livros”, [s.d.]).

Sua estrutura pode ser composta por três principais regiões: Epiderme, Derme e Hipoderme. A epiderme com aproximadamente 50 µm a 150 µm de espessura para humanos, e corresponde à camada externa da pele e cumpre principalmente a função de barreira e interface de troca com o exterior (HENDRIKS et al., 2006). É constituída por um epitélio estratificado pavimentoso queratinizado, que não possui vascularização e é frequentemente renovada, onde as células mais superficiais (células mortas) são descamadas. Os principais tipos celulares encontrados são os queratinócitos, porém, também são encontradas as células de Langerhans que fazem parte do sistema imune e são responsáveis por realizarem a fagocitose nesse tecido, os melanócitos, responsáveis pela produção de melanina, pigmento da pele que age como protetor natural contra os efeitos nocivos de raios UV (Figura 1). As células de Merkel também são encontradas na epiderme, se localizam na base da camada e em contato com fibras nervosas e apresentam função mecanorreceptoras (ROGER et al., 2019).

A derme com aproximadamente 150 µm a 4 mm de espessura para humanos (JOR et al., 2013) é responsável pela sustentação da epiderme, fornecendo-lhe nutrientes e suporte estrutural (Figura 1). A derme se divide em camada papilar e reticular. A camada papilar corresponde à parte mais externa da derme, e é constituída de tecido conjuntivo frouxo, é mais delgada, altamente

vascularizada, possuindo também as papilas dérmicas (RITTIÉ; FISHER, 2015). A derme reticular compreende uma ampla variedade de sensores, glândulas e vasos, e é responsável pela maior parte das propriedades mecânicas da pele em tensão através de um arranjo denso e em camadas de fibras de colágeno onduladas (~60-80% do peso do tecido seco), elastina e fibras transversais (~1-4% do peso do tecido seco), todas incorporadas em uma matriz de proteoglicano comumente referida como substância fundamental (JOR et al., 2013; LIMBERT, 2017).

O principal tipo celular e o mais abundante existente na derme são os fibroblastos. Eles são responsáveis pela produção das fibras colágenas e elásticas da matriz extracelular (MEC). São eles que fazem toda a manutenção da MEC e controlam o volume de fibras mantendo a integridade do tecido. Os mesmos possuem prolongamentos citoplasmáticos que são capazes de permitir comunicações intercelulares e quando existem ferimentos na pele, eles conseguem migrar para o tecido lesionado para auxiliar na cicatrização (LAING et al., 2020). Os fibroblastos são de suma importância para o funcionamento normal da pele, participando de diversos processos metabólicos, dentre eles a produção de enzimas como as metaloproteinases (MMPs) que agem degradando fibras de colágenos produzidas pelos próprios fibroblastos, mantendo assim uma homeostase no ambiente. Produzem também ácido hialurônico (AH), contribuindo para a hidratação da pele (SHIN et al., 2019).

Além dos fibroblastos, outras células se encontram presentes na derme, como os macrófagos, mastócitos e células dendríticas. Os macrófagos são as células fagocitárias do sistema imune. Os mastócitos são os responsáveis por ativação de ações inflamatórias, ativação das células do sistema imune e regulação do fluxo sanguíneo capilar, através da liberação de diversas substâncias como citocinas, histamina, prostaglandinas entre outras. Além das citadas, estão presentes as células dendríticas dérmicas responsáveis pela apresentação dos antígenos desempenhando importante papel de defesa (LAING et al., 2020).

E por último temos a hipoderme (ou camada subcutânea) que é a camada mais interna da pele e é composta principalmente por tecido adiposo, no qual os adipócitos formam aglomerados chamados lóbulos, rodeados por uma rede fibrocolágena (Figura 1). Suas principais funções são fornecer isolamento

térmico, armazenar energia e absorver choques (WILKES; BROWN; WILDNAUER, 1973). Sua estrutura de tecido conjuntivo frouxo também permite minimizar o atrito com o tecido muscular vizinho. Sua espessura varia muito dependendo da região do corpo e do sujeito (BUTLER et al., 2015).

A pele é considerada o maior órgão do corpo humano, sendo considerada uma defesa primária para prevenção de infecções por patógenos, efeitos nocivos da radiação ultravioleta (UVA e UVB), lesões físicas, trocas térmicas e perda excessiva de umidade (TORKAMAN et al., 2021). O tecido da pele é geneticamente feito para acompanhar o desenvolvimento e também se recuperar de lesões durante a vida de um indivíduo (PISSARENKO; MEYERS, 2021). Esse grande escudo de proteção chamado pele constitui cerca de 12% a 15% do peso corporal de um indivíduo (LORZ et al., 2019).

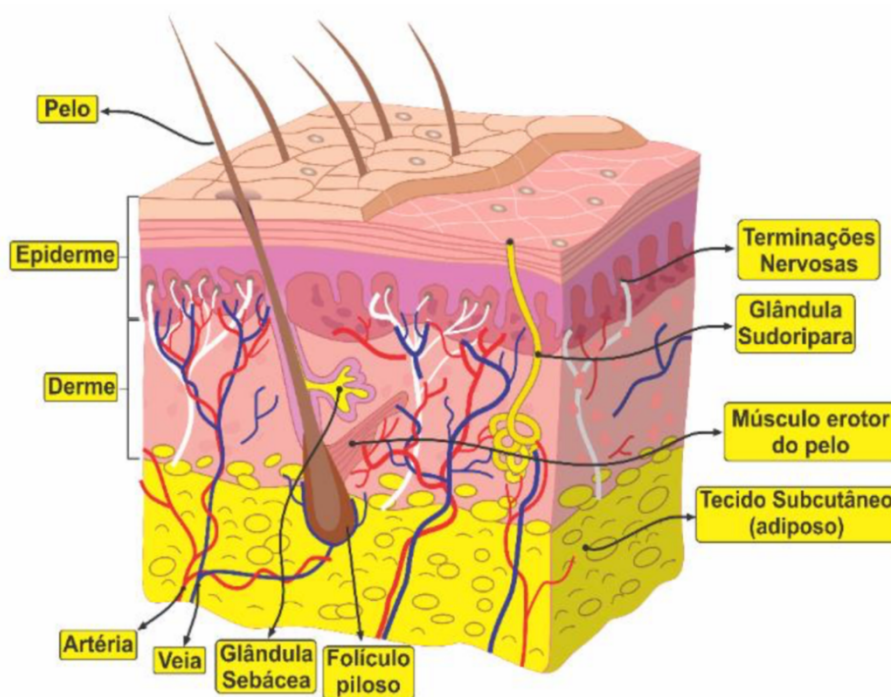


Figura 1: Representação esquemática das principais estruturas da pele (SILVA et al., 2024).

3.2 Fisiologia da reparação tecidual

Ao ser lesada, a pele e seus anexos apresentam uma cascata de respostas celulares e vasculares, com o objetivo de reparar o dano ocorrido, sendo esse processo chamado de reparo tecidual. O reparo consiste em um processo complexo que envolve respostas sistêmicas e locais, e seu sucesso depende da etiologia da lesão, tipo de tecido acometido, condição sistêmica do paciente, entre outros fatores (CHEN et al., 2021).

Assim que a pele sofre alguma lesão, inicia-se um processo de reparo tecidual, onde o mesmo pode ser dividido em três fases: inflamatória, proliferativa e de maturação, que são ativadas por um conjunto de mediadores químicos, fragmentos e matriz celular e alterações físico-químicas (AS et al., 2021).

3.2.1 Fase Inflamatória

Embora a fase inflamatória seja amplamente aceita como a primeira fase da cicatrização de feridas, alguns autores sugerem que deve haver quatro fases de cicatrização de feridas, começando com a fase da hemostasia (LI; CHEN; KIRSNER, 2007; MORTON; PHILLIPS, 2016a; WILHELM; WILHELM; BIELFELDT, 2017). Assim a fase inflamatória pode ser dividida em respostas vasculares que levam à hemostasia e respostas celulares, que resultam no influxo de leucócitos para a área lesionada.

Após a lesão na pele, os sinais tradicionais de inflamação (vermelhidão, inchaço e calor) são causados por vazamento de fluido intravascular e sangue e obstrução da drenagem linfática local (LI; CHEN; KIRSNER, 2007). Compostos vasoativos, como histamina, serotonina e catecolaminas, são liberados de células danificadas, causando uma vasoconstrição transitória e, em seguida, vasodilatação para permitir com que fluidos e células passem para o local extravascular da lesão. A exposição do subendotélio após a lesão resulta na exposição de colágeno e fator de tecido ativando plaquetas, que são as primeiras células a chegar, gerando agregação e adesão (LIU et al., 2018) As plaquetas liberam serotonina, tromboxano A₂, e proteínas adesivas como fibrinogênio, fibronectina, fator III (Fosfolípeos) e fator de Von Willebrand, que, juntamente

com a trombina local, estimulam uma maior agregação plaquetária, levando a um tampão plaquetário. A conversão de fibrinogênio em fibrina por trombina resulta na formação de um coágulo de fibrina. O coágulo de fibrina fornece hemostasia, uma barreira para microrganismos e um andaime de matriz para fixação celular, e serve como um reservatório de fatores de crescimento (LUX, 2022).

O coágulo de fibrina formado na fase de homeostase contém fibronectina reticulada, fator XIII ativado e fibrina que se apresenta como uma matriz extracelular provisória. As plaquetas liberam uma variedade de fatores de crescimento responsáveis pela quimioatração dos leucócitos (HOSGOOD, 2006; LI; CHEN; KIRSNER, 2007).

A fase inflamatória começa quando os neutrófilos aderem ao endotélio em poucos minutos após o trauma e período de homeostase (MCDANIEL; ROY; WILGUS, 2013). Os neutrófilos usam a elastase e o colágeno para facilitar a migração para o espaço extracelular, onde fazem fagocitose de bactérias, degradam as proteínas da matriz e atraem neutrófilos e macrófagos adicionais (MCDANIEL; ROY; WILGUS, 2013). Os macrófagos são indiscutivelmente a célula inflamatória mais importante no processo de cicatrização aguda, dominando dentro de 3 a 5 dias. Eles fagocitam organismos patogênicos, degradam os detritos da ferida e estimulam a formação de tecido de granulação e a angiogênese (DELAVARY et al., 2011).

Os fatores de crescimento de macrófagos que são liberados incluem PDGF, TGF- β , fator de crescimento de fibroblastos, interleucina-1, interleucina-6 e fator de necrose tumoral- α (YUSSOF et al., 2012). O TGF- β é particularmente importante, estimulando os macrófagos e influenciando a função dos fibroblastos, a quimiotaxia e a deposição de colágeno (DELAVARY et al., 2011). A secreção dessas citocinas e fatores de crescimento contribuem na angiogênese, fibroplastia e síntese de matriz celular, fundamentais para a transição para a fase proliferativa (CHEN et al., 2021).

3.2.2 Fase Proliferativa

A fase proliferativa consiste no momento inicial da formação da cicatriz, tem início após o terceiro dia de lesão e mantém-se durante 2 a 3 semanas. Destaca-se principalmente pela formação do tecido de granulação, sendo formada por três etapas; neo-angiogênese, fibroplastia e epitelização (CHEN et al., 2021). Essa fase da cicatrização de feridas é caracterizada pela intensa migração e proliferação de células e síntese de tecido de granulação, composto por matriz extracelular provisória, macrófagos, células endoteliais e fibroblastos (TOTTOLI et al., 2020).

Ao mesmo tempo, o fator de crescimento endotelial vascular, regulado pela baixa tensão de oxigênio, promove o processo de angiogênese, formando novos vasos sanguíneos necessários para manter o processo de cicatrização. Células endoteliais capilares próximas são recrutadas e estimuladas a proliferar pelo fator de crescimento endotelial como FGF, VEGF, EGF (fator de crescimento epidérmico) e TGF- β 1 (fator de crescimento transformador- β 1) para promover a proliferação de fibroblastos, queratinócitos e células endoteliais (MORTON; PHILLIPS, 2016b). Os fibroblastos nesse processo também têm a capacidade de sintetizar compostos de matriz extracelular provisória, incluindo colágeno tipo III, proteoglicanos e fibronectina, a fim de apoiar a migração celular para a área (RODRIGUES et al., 2019b).

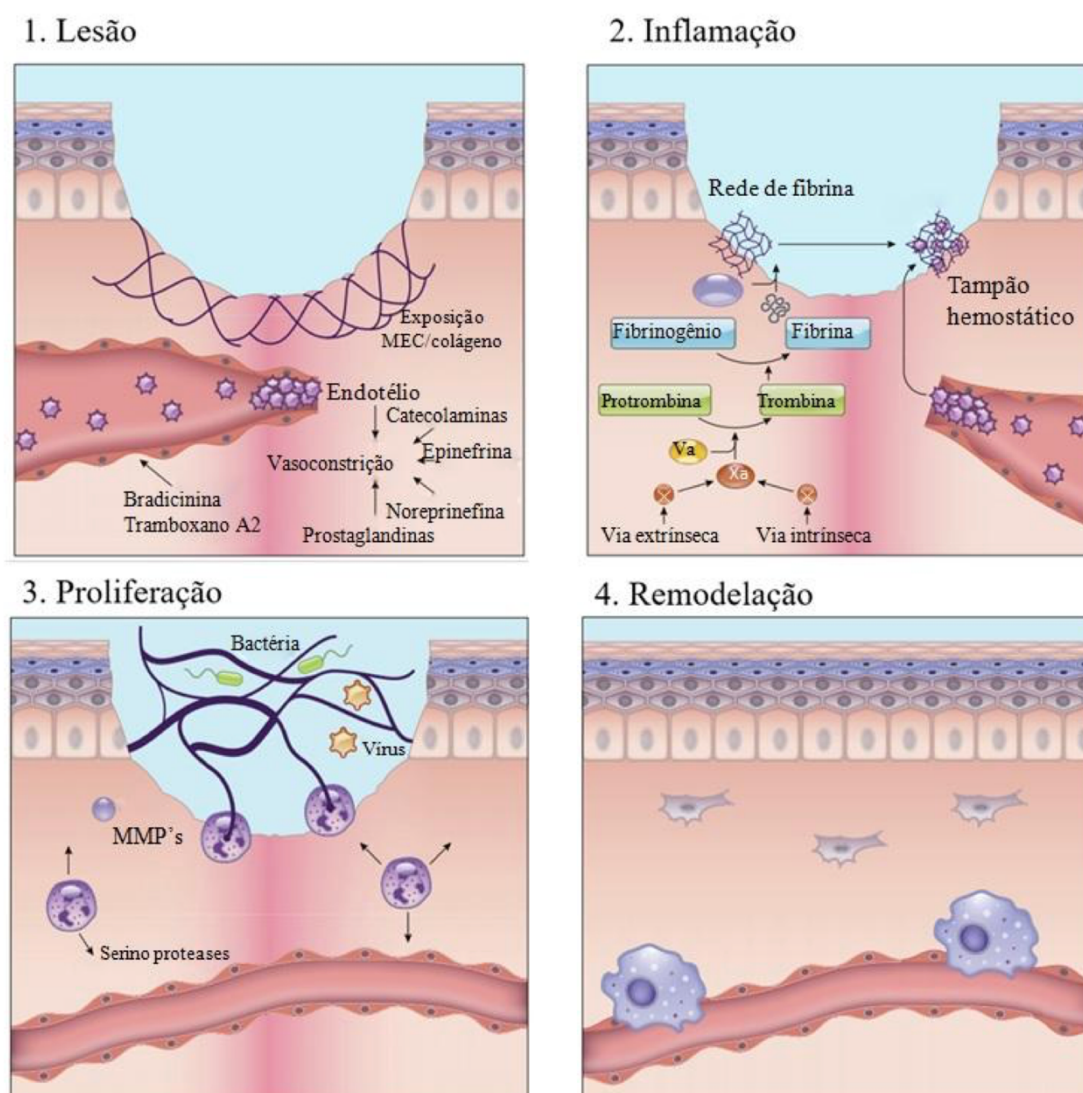
Nesta etapa uma matriz de fibrina precoce permite que os queratinócitos, em parte estimulados pelo TGF- β , desloquem-se da borda da ferida e dos folículos pilosos e deslizem sobre os queratinócitos já no leito da ferida (YUSSOF et al., 2012). Durante a fase proliferativa, a reepitelialização ocorre para fechar a lacuna epitelial e restaurar a função de barreira da pele (TOMIC-CANIC; WONG; SMOLA, 2018).

3.2.3 Fase de Remodelação

O último estágio da cicatrização de feridas na pele é a fase de remodelação, que depende dos mecanismos iniciados nas fases iniciais. Nessa etapa há uma diminuição do tecido de granulação, substituição da matriz extracelular provisória e apoptose de células provisórias que migraram para a área. Os fibroblastos são estimulados pelo TGF- β 1 para se diferenciar em

miofibroblastos, adquirindo um fenótipo contraível e diminuindo a área da ferida devido aos múltiplos pontos de conexão das proteínas do miofibroblasto às fibras de colágeno. Além disso, as proteínas da matriz extracelular provisória são degradadas por MMPs, proteases dependentes de metais sintetizadas por células locais para remodelar as proteínas da matriz extracelular feridas (GUSHIKEN et al., 2021). Assim, os fibroblastos atuam na remodelação do tecido ao sintetizarem colágeno tipo I, elastina e outros compostos de matriz extracelular permanente, resultando em maior resistência e flexibilidade na pele regenerada (REINKE; SORG, 2012).

Figura 2: Diferentes fases da cicatrização (BEZERRA, 2021).



3.3 Feridas Crônicas e seus agravos

São consideradas feridas crônicas ou de difícil cicatrização aquelas feridas que cujo tamanho não reduziu em mais de 40% a 50% (ATKIN et al., 2019) ou não cicatrizou em um período de 1 mês (KYAW et al., 2018). As feridas crônicas podem ter diferentes causas e são normalmente classificadas em categorias de úlceras de pé diabético, feridas relacionadas a doença arterial periférica, úlceras venosas de perna, úlceras de pressão, lesões e feridas atípicas de difícil cicatrização, e a cura dessas feridas crônicas depende dos mais variados fatores biológicos complexos e regimes de tratamento de feridas (ZHU et al., 2022).

Um dos grandes problemas de feridas difíceis de curar é que consomem quantidades desproporcionais de produtos médicos que vão desde dispositivos até medicamentos e demandam muito tempo dos profissionais de saúde. Mesmo apesar da relativa padronização do gerenciamento de feridas crônicas, as taxas de cicatrização variam consideravelmente em feridas de pés diabéticos classificadas como estágio 4 de acordo com o Sistema de Ferida, Isquemia e Infecção no Pé (Wifl), onde o tratamento e cura podem levar até uma média de 190 dias (MATHIOUDAKIS et al., 2017). Já úlceras venosas nas pernas adequadamente gerenciadas com 12 semanas de compressão têm taxas de cicatrização de 32 a 55%; em 24 semanas, até 68% podem curar (IGLESIAS et al., 2004). Além disso, entre 12% e 47% dos pacientes com úlceras venosas nas pernas gerenciadas ao longo de 12 meses podem não cicatrizar. As taxas de cicatrização com bandagem de compressão por períodos mais prolongados de até 420 dias podem chegar a cerca de 90% e mais de 500 dias, 93% (ATKIN et al., 2019).

As úlceras venosas nas pernas hoje são o tipo mais comum de ferida crônica após úlceras por pressão, com uma prevalência estimada de 1,5 a 3 casos por 1.000 pessoas. A maior prevalência acomete indivíduos com mais de 65 anos de idade tendo uma incidência anual de 1,2%. A prevalência de úlceras tem sido um pouco estável ao longo do tempo e por país, mas variando de acordo com a localização, ou seja, população completa ou ambiente de cuidados primários (FALANGA et al., 2022) .

No entanto, um outro grande problema é que mesmo depois de uma ferida crônica cicatrizar até 40 % de úlceras causadas por diabetes (ARMSTRONG; BOULTON; BUS, 2017) e 69% das úlceras venosas de perna (O'MEARA et al., 2012) podem recorrer dentro de 1 ano.

Quando se trata do impacto das feridas crônicas na vida das pessoas acometidas e nos recursos financeiros do setor saúde, estudos demonstram resultados preocupantes. Nesses casos a qualidade de vida é impactada negativamente devido a alterações na imagem corporal, prejuízos na mobilidade, presença de dor, incapacidade para o trabalho e déficit no autocuidado (DE OLIVEIRA et al., 2019). Outro motivo seriam que essas lesões também geram altos custos assistenciais, visto que envolvem tratamentos complexos e longos, uso de terapias tópicas, cuidados domiciliares, internações, além de possíveis recorrências frequentes (RODRIGUES, 2023).

A prevalência global de feridas crônicas é estimada em 1,51 a 2,21 por ano a cada 1.000 habitantes, e espera-se que essa incidência aumente com envelhecimento da população em todo o mundo (GOH et al., 2020). Nos Estados Unidos da América (EUA) estima-se que até 4,5 milhões de pessoas sejam portadoras delas (DE OLIVEIRA et al., 2019).

Um estudo realizado nos EUA, utilizando o sistema de seguros de saúde *Medicare*, demonstrou que as feridas afetaram 15% dos usuários e estimou-se que o gasto anual para o tratamento foi de US\$ 28 bilhões (NUSSBAUM et al., 2018). Já no Brasil, estudo conduzido em uma unidade de cuidados paliativos e prolongados identificou os custos de materiais requeridos para os curativos e estimou-se que custo médio total tenha sido de R\$ 36.629,95/mês e R\$ 915,75 paciente/mês, projetando assim que os gastos poderiam atingir R\$ 445.664,38/ano (MOREIRA COSTA et al., 2015).

Entretanto, estimar a prevalência de feridas é uma tarefa bem desafiadora, pois não há concordância ou distinção reconhecida entre feridas agudas e crônicas ou um claro consenso pré-estabelecido sobre o período para a cronicidade da lesão (MARTINENGO et al., 2019).

3.4 Filmes Curativos

Como intuito de acelerar o processo curativo e de cicatrização e reaver a qualidade de vida dos pacientes, a indústria vem buscando desenvolver novos materiais que tenham baixo custo, baixa toxicidade e somado a isso uma alta eficiência. Têm se destacado os materiais formadores de filmes poliméricos como uma alternativa vantajosa e promissora para o desenvolvimento desses novos materiais (CHEN; LIU, 2016).

Nos últimos anos o setor de biomateriais vem crescendo cada vez mais, propiciando melhorias na qualidade de vida humana e despertando a curiosidade científica. Esses biomateriais são substâncias ou combinações destas, de origem sintética ou natural que podem ser usadas por qualquer período de tempo para aumentar ou substituir total ou parcialmente qualquer tecido, órgão ou função fisiológica. Eles podem ser classificados como biomateriais metabólicos, cerâmicos, compósitos, ou poliméricos, onde os poliméricos possuem uma vasta aplicação em curativos (BRITO DE QUEIROZ; FERREIRA TOMAZ, 2021).

Então para que um polímero seja eficaz ele necessariamente precisa apresentar um desempenho adequado entre a interação do biomaterial, as células e os fatores de crescimento (BAHIA BRASIL et al., 2010).

Os filmes feitos a partir de polímeros funcionam como possíveis substitutos temporários da pele, protegendo como uma barreira física e mecânica, principalmente no manuseio de infecções das feridas. Os filmes poliméricos, que possibilitam uma melhora no processo regenerativo, onde seu uso apresenta algumas vantagens que valem destaque como: capacidade de absorção de fluidos e exsudatos provenientes da ferida sem vazamentos, não exigindo troca e limpeza frequentes, permite troca gasosa apropriada, proporciona microambiente úmido, além de proteger a ferida de microrganismos e outros agentes tóxicos, elevando a qualidade do processo de regeneração e reduzindo os riscos de complicações (ALI et al., 2020; HASATSRI et al., 2018a).

Sempre que a pele é submetida a alguma lesão ou dano, numa primeira etapa, o corpo humano sabe como superar essa lesão (MINUTTI et al., 2017). Entretanto, em situações em que a pele seja gravemente lesionada, é necessário vestir-se como uma atadura de gaze, que funciona como uma cobertura contra

a entrada de fatores externos. Para obter uma melhor recuperação, curativos modernos são recomendados devido à sua capacidade de preservar a umidade ao redor da ferida, promover a cicatrização da ferida, absorver sangue extra e também devido às suas atividades antibacterianas e à remoção indolor (TORKAMAN et al., 2021). Portanto, uma vasta gama de curativos tem sido desenvolvida e usada, incluindo poli (ácido láctico-co-glicólico) (SHIN et al., 2016), poliuretano (UNNITHAN et al., 2017), alginato (VARAPRASAD et al., 2020), ácido hialurônico (FAHMY; ALY; ABOU-OKEIL, 2018), heparina (GOH; HWANG; TAE, 2016), celulose (PORTELA et al., 2019), quitosana (RAHMANI et al., 2020), colágeno (STRONG et al., 2016), gelatina (YAO et al., 2017) e goma de guar (ANSARI; MEFTAHIZADEH; ESLAMI, 2023).

3.5 *Moringa oleifera*

Moringa oleifera é uma planta decídua tropical de crescimento rápido que pertence à família *Moringaceae*, ordem *Capparidales*, classe *Magnoleopsida*. *Moringa oleifera* apresenta raízes espessas e tuberosas, folhas verdes claras e floração abundante com frutas e sementes alongadas e pendentes. É identificada por seu fruto na forma de uma vagem longa e lenhosa, que, quando madura, se abre em dois folhetos, que contêm as sementes trivalentes com asas longitudinais. Suas folhas pinadas são divididas em folhetos dispostos em um ráquis (ASENSI; VILLADIEGO; BERRUEZO, 2017; MILLA; PEÑALVER; NIETO, 2021).

As flores são agrupadas em panículas axilares, são bissexuais, zigomórficas com cinco pétalas brancas desiguais, cinco sépalas, cinco estames e vários estaminodes; elas têm pedicelos e inflorescências auxiliares. A planta tem caules eretos e raízes tuberosas. É uma árvore que pode atingir 7 a 12 m de altura e 20 a 40 cm de diâmetro, com uma coroa aberta e caule reto (MILLA; PEÑALVER; NIETO, 2021).

O único gênero *Moringa* consiste em 13 espécies, que são elas; *M. arborea*, *M. concanensis*, *M. drocanensis*, *M. drouhardii*, *M. hildebrandtii*, *M. pygmeae*, *M. pilgrim*, *M. rospoliana*, *M. ovalifolia*, *M. stenopetala*, *M. rivaie*, *M.*

oleífera e *M. borziana*, que foram amplamente distribuídas e naturalizadas em Bangladesh, Sri Lanka, Paquistão, região da Arábia, África, Índias Ocidentais, Flórida, América do Sul, Peru, Paraguai e Brasil (FAHEY, [s.d.]; OLSON, 2002).

A espécie *Moringa* é uma planta popular desde os tempos muito antigos por causa de seu uso tradicional como agente de cura para a saúde e também como alimento, devido ao uso de diferentes estruturas vegetativas, como folhas, cascas de vagens, caule, flores, frutas e sementes (ISLAM et al., 2021).

A composição química da *M. oleífera* pode variar dependendo das variações climáticas, do manejo da cultura, se é cultivada ou selvagem, do estado de maturidade da planta no momento da colheita, do tipo de processamento pós-colheita e depende da área de cultivo, ou seja, da terra onde é cultivada. É uma planta rica em metabolitos primários, fonte de minerais, como cálcio, potássio, zinco, magnésio, ferro, fósforo e cobre, sua folha possui um alto teor de proteína, devido a grande presença de aminoácidos essenciais, que constituem 30% do seu peso seco (GÓMEZ; ANGULO; JOHANA, 2014; LEÓN-FÉLIX; ANGULO-ESCALANTE; DORADO, 2017). Já a semente apresenta uma alta proporção de ácidos graxos monoinsaturados/saturados (MUFA/SFA), esteróis e tocoferóis, bem como proteínas ricas em aminoácidos de enxofre (LEONE et al., 2016).

As diferentes partes da *Moringa oleífera* são boas fontes de metabólitos secundários, como glicosinolatos, flavonoides e ácidos fenólicos (AMAGLO et al., 2010), carotenoides, tocoferóis (SAINI; SHETTY; GIRIDHAR, 2014). Alcaloides, saponinas, taninos, esteroides, ácidos fenólicos, alcaloides, carotenóides, polifenóis, isotiocianatos, fitatos, glucosinolatos, flavonoides e terpenos podem ser encontrados na folha de *Moringa oleífera*. Entre os glucosinolatos, o benzil 4-O-(α -L-rhamnopyranosiloxi)-glucosinolato é o mais predominante (glucocomoringina) (AMAGLO et al., 2010). A semente é rica em fitosteróis, sendo mais abundantes dos quais são β -sitosterol, estigmasterol e campesterol, Alcalóides, saponinas, fitatos, taninos e compostos fenólicos (quercetina e ácido p-hidroxibenzoico) (MILLA; PEÑALVER; NIETO, 2021).

3.6 Aplicações da *Moringa oleífera*

Todas as partes da moringa como raízes, folhas, flores, frutos, sementes, caule e casca possuem aplicação na medicina e nutrição. Esses usos vão desde a cosmética, no tratamento de água e efluentes, produção de energia, biomassa, forragem, alimentação animal, produção de mel e outros como potencializador do crescimento de plantas, como quebra-vento e em sistemas agroflorestais (VICENTE et al., 2023).

Além disso, *M. oleífera* é geralmente conhecida como “a árvore milagrosa” por causa de suas propriedades médicas benéficas únicas, como atividade anti-inflamatória, que se dá devido ao conteúdo de flavonoides, alcaloides, taninos e glicosídeos, entre os quais a quercetina parece inibir a ativação da NF-KB, produzindo assim um efeito anti-inflamatório (CHEENPRACHA et al., 2010; DAS et al., 2013). Apresenta também efeitos antioxidante (PAIKRA; DHONGADE; GIDWANI, 2017), hepatoprotetor (BRILHANTE et al., 2017), anticâncer (BARHOI et al., 2021), antitumoral (PATRIOTA et al., 2020) e antimicrobianos (ABD EL-HACK et al., 2022; BINDHU et al., 2020; PETER et al., 2011).

Cada parte da árvore de moringa, incluindo folhas, raízes, casca, sementes, flores e vagens, é comestível por peixes e gado. Vários relatórios indicaram que as refeições de *M. oleífera* poderiam ser utilizadas de forma eficiente por uma grande variedade de espécies animais, como cabras, gado, frango e também peixe (MILLA; PEÑALVER; NIETO, 2021).

No entanto, a *Moringa oleífera* não é totalmente segura, pois muitos estudos encontraram vários compostos que foram associados a doenças hepáticas, renais, hematológicas e outras. Um exemplo são as sementes de *Moringa oleífera* que, quando assadas apresentam mutagênicos potenciais, como 4-(α -lramnopyranosiloxy)-benzilglucosinolato, que aumentaram a proporção de eritroblastos policromatófilicos micronucleados, indicativos de algum grau de genotoxicidade (ASARE et al., 2012).

3.7 Lectinas

Lectinas compõem um grupo diverso de proteínas com características não imunes que fazem ligações multivalentes e reversíveis aos carboidratos. As

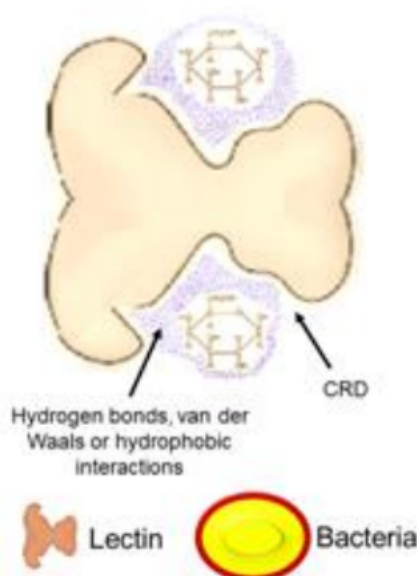
mesmas reconhecem especificamente, por meio de seu domínio não catalítico, diferentes estruturas de glicose, como mono, oligo ou polissacarídeos presentes em glicoproteínas ou glicolipídios, sem alterar as estruturas de carboidratos (DE SOUSA et al., 2021). Essas lectinas possuem uma variada distribuição na natureza, sendo encontradas em microrganismos, algas, esponjas e veneno de serpentes. Em plantas já foram isoladas e caracterizadas de diversos tecidos, tais como: cerne, casca, semente, folha, flor, raiz e rizoma (LIS; SHARON, 1998; SILVA, 2019).

A primeira descrição sobre lectinas foi feita em 1888 quando Stillmark, ao estudar a toxicidade de extratos de *Ricinus communis* (mamona), observou em a capacidade de aglutinar eritrócitos e atribuiu essa capacidade à presença de uma proteína, a ricina (KENNEDY et al., 1995). Pouco tempo depois, outra hemaglutinina, chamada abrina, foi descoberta em sementes de *Abrus precatorius* (jequiriti). No entanto, o estudo sobre estas proteínas só começou a ganhar impulso com os trabalhos de Sharon e Lis em 1972, abrindo grandes possibilidades de aplicação para essas proteínas (BIES; LEHR; WOODLEY, 2004; GABOR et al., 2004; LAVÍN DE JUAN et al., 2017).

O termo lectina usado para denominar essas proteínas é originado do latim *lectus*, que significa selecionado, pois refere-se à capacidade dessas proteínas de ligarem-se seletivamente a carboidratos (PAIVA et al, 2011). Outro termo também usado é aglutinina, que vem como um sinônimo para lectina, porque atribui-se à habilidade de aglutinar eritrócitos ou outras células (DE; CARVALHO, 2013). Essas proteínas não possuem um caráter imunológico, o que as diferencia de anticorpos anticarboidratos que aglutinam células. Ainda, os anticorpos são estruturalmente parecidos, enquanto as lectinas diferenciam-se entre si quanto à composição aminoacídica, requerimentos de metais, massa e estrutura tridimensional (COELHO et al, 2010).

As lectinas em sua grande maioria podem ser di ou polivalentes, sendo essas capazes de se ligar, de maneira reversível e específica, a mono e oligossacarídeos (Figura 3), que se apresentam em solução ou ligados à membrana celular (BONNARDEL et al., 2020; MARTÍNEZ-BAILÉN; ROJO; RAMOS-SORIANO, 2023).

Figura 3: Representação esquemática da ligação da lectina a um carboidrato (A). As setas representam pontes de hidrogênio e outras forças envolvidas a ligação (BREITENBACH; COELHO, 2017).

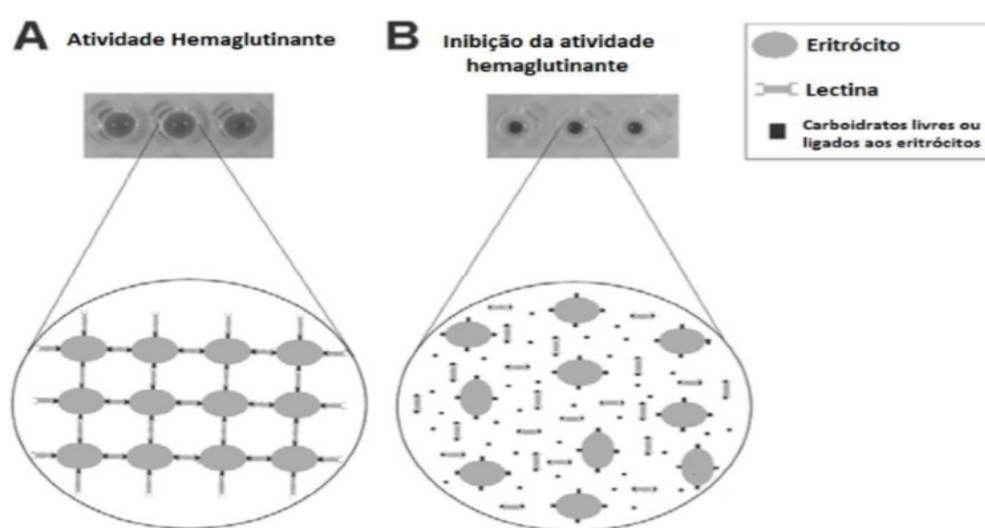


A presença ou ausência de lectinas em uma amostra pode ser identificada pelo ensaio de atividade hemaglutinante, no qual ocorre a aglutinação devido à interação da lectina com carboidratos da superfície dos eritrócitos através de seus sítios de ligação, formando uma rede entre eles (Figura 4A). Os eritrócitos utilizados podem ser tanto de humanos como de outros animais, os quais podem ser tratados com enzimas (tripsina, papaína, entre outras) visando aumentar a interação lectina-eritrócito ou com reagentes químicos, como o glutaraldeído ou formaldeído, reagentes esses que promovem uma maior fixação dos eritrócitos e possibilita o armazenamento deles por mais tempo (COELHO et al, 2010; NAPOLEÃO et al., 2013).

A especificidade das lectinas por carboidratos pode ser investigada por meio do ensaio de atividade hemaglutinante na presença dessas moléculas. Nesse teste, a lectina é diluída em uma placa de microtitulação contendo uma solução de carboidratos livres. Após a incubação e a adição dos eritrócitos, observa-se a ocorrência ou ausência de aglutinação. Se a lectina reconhecer e se ligar aos carboidratos livres em solução, a interação com os carboidratos presentes na superfície dos eritrócitos será bloqueada, resultando na ausência de hemaglutinação (Figura 4B). Esse comportamento revela a especificidade da

lectina testada. Lectinas de origem vegetal podem se ligar a carboidratos simples, como monossacarídeos, ou a estruturas mais complexas, como oligossacarídeos e glicanas, incluindo ácidos N-glucurônico, galacturônico, xilurônico, L-idurônico, siálico e N-acetilmurâmico (VAN DAMME, 1998).

Figura 4. Ensaio de hemaglutinação e de inibição da hemaglutinação em placas de microtitulação. Os círculos mostram representações esquemáticas da rede de eritrócitos formada pela lectina (A) e inibição da atividade hemaglutinante por carboidratos livres (B).



Fonte: (MICHELLE; SILVA, 2019).

O ensaio de atividade hemaglutinante pode também ser utilizado para investigar a interação de lectinas com eritrócitos de diferentes espécies animais. As lectinas podem apresentar especificidade para grupos sanguíneos humanos, como a lectina da polpa do fruto de *Aegle marmelos*, específica para eritrócitos do tipo A (RAJA et al., 2011), e do cogumelo *Marasmius oreades* específica para eritrócitos do tipo B (WINTER; MOSTAFAPOUR; GOLDSTEIN, 2002). Outras lectinas, no entanto, são caracterizadas como não específicas para grupos sanguíneos como a lectina da esponja *Cinachyrella apion* (MEDEIROS et al., 2010), que aglutina todos os tipos de eritrócitos humanos.

3.7.1 Purificação e caracterização de lectinas

A purificação de lectina é um processo essencial para o entendimento de sua estrutura proteica e atividade biológica. O procedimento de purificação envolve várias etapas e a quantificação de proteínas é realizada frequentemente através de metodologias colorimétricas como Lowry (LOWRY et al., 1951) e Bradford (BRADFORD, 1976).

O procedimento de purificação é iniciado com a extração da proteína com água, NaCl 0,15 M ou solução tampão. Em geral, após a extração é realizada uma etapa de precipitação da proteína utilizando-se o sal sulfato de amônio em diferentes faixas de concentração. O sal por ser altamente solúvel retira a camada de solvatação da proteína, o que resulta na precipitação de algumas proteínas. A fração proteica é então dialisada para eliminação do sal e o isolamento da proteína pode ser realizado por meio de métodos cromatográficos. Os processos cromatográficos também podem separar formas desnaturadas e nativas da proteína (BREITENBACH et al., 2011).

A cromatografia de afinidade, troca iônica e exclusão molecular são métodos eficientes em isolar lectinas desde que exploram as diferenças entre elas quanto a bioafinidade, carga e tamanho, respectivamente. Os suportes para cada tipo exibem características que viabilizam a separação como presença de ligante (afinidade), carga (troca iônica) e poros (exclusão molecular). A cromatografia de afinidade, dentre os métodos cromatográficos, é a mais utilizada por sua grande eficiência em isolar lectinas com alto padrão de pureza. Os suportes para cromatografia de afinidade para isolamento de lectinas contêm carboidratos e o processo de separação se dá quando a lectina se liga ao suporte via seu sítio de ligação a carboidrato. São exemplos de suportes a quitina, agarose, gel de guar (BREITENBACH et al., 2011; COELHO et al., 2009; SANTOS et al., 2009; SOUZA et al., 2011).

A caracterização de lectinas pode ser realizada por várias técnicas, onde uma muito usada é a pór eletroforese em gel de poliacrilamida (PAGE), método que se baseia na migração de partículas carregadas, influenciadas por um campo elétrico, sendo útil na avaliação do grau de pureza de estruturas moleculares. Quando realizada em presença do agente desnaturante sulfato sódico de dodecila (SDS-PAGE) revela a massa molecular da proteína desnaturada e a inclusão do agente redutor β -mercaptoetanol no processo, mostra a composição de subunidades (PAJIC et al., 2002).

3.7.2 Classificação de Lectinas

As lectinas apresentam uma enorme variedade estrutural, mas uma característica comum a todas é a presença de pelo menos um sítio de ligação a carboidratos, que corresponde ao chamado domínio de reconhecimento de carboidrato (CARVALHO et al., 2018; DOLEJAL; PPGBOT; ALEGRE, 2007; GABIUS, 1994; LAM; NG, 2011). Existem várias classificações para as lectinas que levam em consideração diferentes critérios.

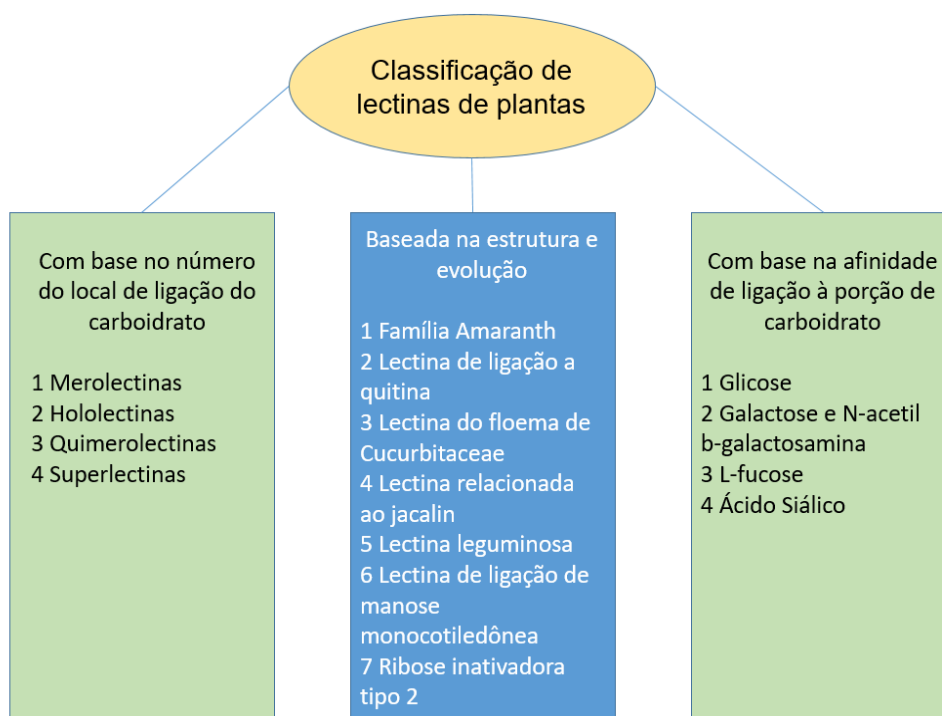
As lectinas de plantas têm sido subdivididas em merolectinas, hololectinas, quimerolectinas e superlectinas (PEUMANS; VAN DAMME, 1998). Merolectinas são aquelas proteínas que possuem apenas um domínio de ligação a carboidratos e, por esse motivo, não podem precipitar glicoconjugados ou aglutinar células. Hololectinas possuem dois ou mais domínios idênticos de ligação a carboidratos, fazendo assim com que haja aglutinação de células e/ou precipitação de glicoconjugados. A maior parte das lectinas de plantas pertence a esse grupo. As quimerolectinas são proteínas com um ou mais domínios de ligação a carboidratos e um domínio não-relacionado, o qual pode ter uma atividade enzimática bem definida ou outra atividade biológica, agindo independentemente dos domínios de ligação a carboidratos. As superlectinas possuem pelo menos dois domínios de ligação a carboidratos não idênticos que reconhecem açúcares estruturalmente diferentes. Um exemplo de superlectina, é a lectina de bulbo de tulipa TxLCI, que contém dois domínios diferentes de ligação a carboidratos, que liga especificamente resíduos de manose e N-acetil-galactosamina (VAN DAMME et al., 1997).

Existe também a classificação que leva em consideração os aspectos estruturais e evolutivos das lectinas. Nesta, as lectinas são agrupadas como: amarantinas, lectinas de ligação à quitina, lectinas do floema de *Cucurbitaceae*, lectinas relacionadas à jacalina, lectinas de leguminosas, lectinas de ligação de manose monocot e as proteínas inativadoras de ribossomos tipo 2 (PIR) (MISHRA et al., 2019).

As lectinas ainda podem ser classificadas de acordo com a especificidade a um ou mais carboidratos sendo lectinas ligadoras de galactose (ADAMUDE et

al., 2020), manose (JONES et al., 2017), N-acetilglicosamina (GOMES et al., 2013) ou D-glicose/manose (ROSAS-BURGOS et al., 2017) entre outros açúcares. A figura 3 resume as diversas classificações e os critérios utilizados em cada uma delas.

Figura 5: Classificação de lectinas de planta (CASTELO BRANCO, 2021)



3.8 Lectina cMoL

As sementes de *Moringa oleifera* são usadas na medicina alternativa para tratar inflamação, tumores e infecções bacterianas e protozoárias, por exemplo. As sementes contêm lectinas, que são proteínas de ligação a carboidratos com várias propriedades biológicas (DE ANDRADE LUZ et al., 2017).

A lectina coagulante de *Moringa oleifera* (cMoL), pertence a um grupo de lectinas isoladas de sementes de *Moringa oleifera* (família *Moringaceae*). Esta lectina é constituída por uma proteína monomérica com um peso aproximado de 26,5 kDa, termoresistente e com maior atividade na faixa de pH 4,0-9,0 e com

afinidade por glicoproteínas como azocaseína e asialofetaina. Conforme revelado pelo SDS-PAGE apresenta atividade coagulante, semelhante ao sulfato de alumínio, o coagulante mais amplamente utilizado no tratamento de água (ARAÚJO et al., 2013; MEDEIROS et al., 2020; SANTOS et al., 2009).

cMoL apresentou atividade inseticida contra *Anagasta kuehniella* (DE OLIVEIRA et al., 2011). A lectina também mostrou efeito inibitório sobre a enzima superóxido dismutase de larvas de *Aedes aegypti* resistentes (AGRA-NETO et al., 2014). Além disso, apresentou atividade citotóxica contra a linhagem cancerígena B16- F10 (melanoma murino) (DE ANDRADE LUZ et al., 2017). Quando imobilizada, esta proteína foi capaz de remover 30 miligramas de ácido húmico, um composto orgânico de origem biológica encontrado em águas superficiais, por grama de suporte (SANTOS et al., 2011).

A lectina cMoL também apresentou efeitos fungistáticos contra cepas de *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii* e inibiu de forma significativa a formação de biofilme por *C. neoformans* (SILVA, 2023). Em testes realizados com *Haemonchus contortus*, um parasita de ruminantes a cMoL foi capaz de reduzir a motilidade dos parasitas em todos seus estágios do parasita (MEDEIROS et al., 2020). Em estudos de genotoxicidade de cMoL a lectina não apresentou nenhuma atividade genotóxica significativa e nem efeitos tóxicos para PBMCs (BARROS et al., 2021).

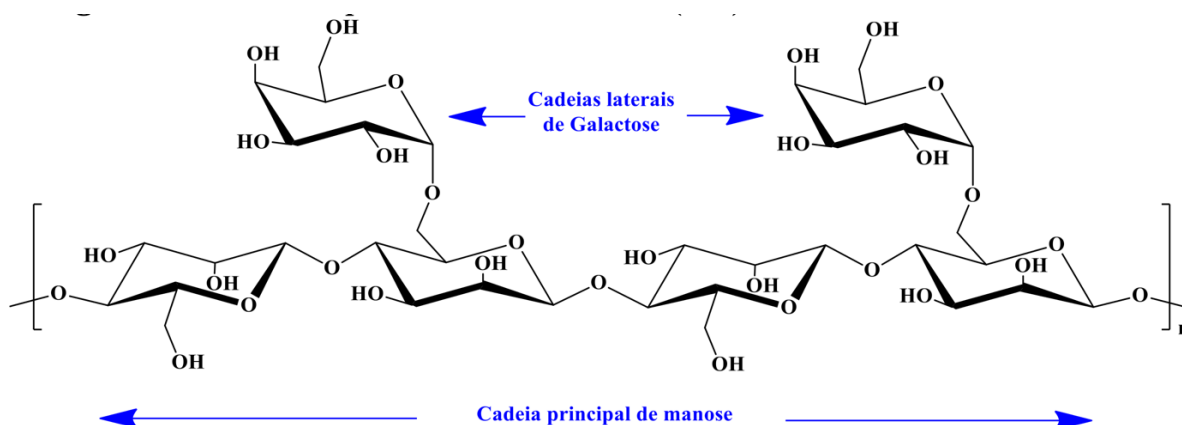
Em testes com um biossensor usando MOF/cMoL foi observado que o mesmo foi capaz de monitorar resíduos de corante em amostras tratadas com eletrodos de ferro e alumínio, e que esse método de eletrocoagulação foi eficiente na remoção do corante de carmim índigo e constitui um sistema convencional (DE OLIVEIRA et al., 2023).

3.9 Goma Guar

A goma guar é obtida de sementes da *Cyamopsis tetragonolobus*, um membro da família *Fabaceae*, e cultivado principalmente no oeste da Índia e no leste do Paquistão, e em menor extensão em áreas tropicais, como América do Sul e Central, África, Austrália e em regiões semiáridas do sudoeste dos EUA. Na sua composição a semente contém cerca de 80% de galactomanano 12% de

água, 5,0% de proteína, 2,0% de cinza insolúvel ácida, 0,7% de cinza, 0,7% de gordura e consiste em cadeias lineares de unidades (1 → 4)-β-D-mannopiranosil com unidades de α-d-galactopiranosil ligadas por (1 → 6) ligações (FERREIRA, 2024; PRABAHARAN, 2011; SHARMA et al., 2018).

Figura 6: Estrutura química da Goma Guar (GG) (FERREIRA, 2024)



A goma guar se mantém estável entre uma faixa de pH de 5-8, entretanto, a formação do gel, e por sua vez, a sua viscosidade, dependerá total e principalmente da temperatura, tempo, pH, força e velocidade de agitação, e do tamanho das partículas da goma em pó (GUAR et al., 2020).

A goma de guar hidrata facilmente em meios aquosos para produzir uma solução pseudo-plástica viscosa que tem maior baixa viscosidade de cisalhamento do que a maioria dos outros hidrocolóides (GEORGE; SHAH; SHRIVASTAV, 2019).

As mais variadas formas derivadas de goma guar são reportados na literatura, tais como: carboximetil goma guar (DALEI; DAS, 2022), hidroxipropil goma guar (YIN et al., 2018), goma guar oxidada com o tempo (CASTRO et al., 2016), goma guar sulfatada (KAZACHENKO et al., 2021) e goma guar oxidada com periodato de sódio (YU et al., 2022), entre outros.

A goma de guar tem uma grande aplicação indústria, devido à sua capacidade de formar ligações de hidrogênio com a água, possibilitando a formação de hidrogéis; de fato, em alimentos é utilizado em baixas concentrações, uma vez que apresenta elevada viscosidade, limitando a sua utilização em produtos mais fluidos. Suas aplicações estão nos mais variados

setores, como na indústria de alimentos, têxtil, cosméticos, farmacêutica, entre outras (GUAR et al., 2020).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ARTIGO 1

Avaliação de citotoxicidade, toxicidade dérmica e ação anti-infecciosa *in vivo* da lectina coagulante de sementes de *Moringa oleifera* (cMoL).

Simeone Júlio dos Santos Castelo Branco¹, Lucas dos Santos Silva², Patryck Érmerson Monteiro dos Santos¹, Matheus Cavalcanti de Barros¹, Luana Cassandra Breitenbach Barroso Coelho¹, Julliano Matheus de Lima Maux³, Georon Ferreira de Sousa¹, Cristiane Moutinho Lagos de Melo¹, Jacinto da Costa Silva Neto³, Thiago Henrique Napoleão¹, Luís Cláudio Nascimento da Silva², Patrícia Maria Guedes Paiva¹.

1. Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco, Cidade Universitária, 50670-420, Recife, Pernambuco, Brasil.

2. Laboratório de Biologia Microbiana, Universidade Ceuma, Matriz, 65075-120, São Luís, Maranhão, Brasil.

3. Departamento de Histologia e Embriologia, Universidade Federal de Pernambuco, Cidade Universitária, 50670-420, Recife, Pernambuco, Brasil.

RESUMO

As plantas são fontes de lectinas bioativas e a versatilidade de atividades biológicas as tornam valiosas para aplicações biotecnológicas. O presente estudo avaliou a toxicidade em células epiteliais, toxicidade dérmica e atividade anti-infecciosa da lectina coagulante de *Moringa oleifera* (cMoL). Células HEK-293 (1,0 x 10⁶ células por poço) foram incubadas por 24 horas com cMoL em concentração de 3,12 a 100 µg/mL. No ensaio de toxicidade dérmica, os camundongos tratados topicamente com dose única (200 µg/mL) de cMoL foram analisados por 14 dias. O ensaio de atividade anti-infecciosa usou larvas de *Tenebrio molitor* infectadas ou não com *Staphylococcus aureus* e cMoL (100 -

200 µg/mL). A incubação de células HEK-293 com cMoL (3,125–100 µg/mL) não resultou em citotoxicidade significativa, sendo detectado 94,65% de viabilidade celular. No ensaio de toxicidade dérmica, não ocorreu mortalidade, sinal de intoxicação ou alteração no comportamento ou nos parâmetros bioquímicos e hematológicos e padrão histológico. No bioensaio com larvas de *T. molitor*, cMoL (100 - 200 µg/mL) não apresentou toxicidade e, no tratamento profilático, a concentração de 100 µg/mL aumentou a sobrevida das larvas infectadas em cerca de um dia. No tratamento pós-infecção, a concentração de 200 µg/mL também prolongou a sobrevida em um dia. O grupo infectado sobreviveu em média 6 dias, enquanto o grupo tratado com 100 µg/mL teve 40% de sobrevivência no dia 7. Os resultados demonstram que cMoL não é citotóxica para células HEK-293 e a administração tópica da lectina na dose de 200 µg/mL não promoveu toxicidade em camundongos. Os dados também revelam que cMoL tem efeito anti-infeccioso *in vivo* em infecções por *S. aureus*. O estudo indica o potencial uso de cMoL no desenvolvimento de novos fitofármacos.

1 INTRODUÇÃO

As lectinas são um grupo de proteínas heterogêneas, capazes de estabelecer ligações específicas e reversíveis com monossacarídeos e oligossacarídeos, estando livres ou ligados à superfície celular pelos sítios de ligação específicos (SILVA e ARAÚJO, 2021). As plantas são consideradas a fonte mais acessível dessas proteínas, sendo possível extrair e isolar lectinas de diversas partes de sua anatomia, incluindo sementes, cascas, folhas, frutos, raízes e tubérculos (SANTOS et al., 2014).

Estudos envolvendo lectinas já relataram ampla gama de atividades biológicas, incluindo ação antifúngica (SANTOS, 2021) e atividades antibacteriana (CARNEIRO et al., 2022), anti-inflamatória (LOPES, 2022) e cicatrizante (LIMA et al., 2022). No entanto, apesar das aplicações médicas promissoras das lectinas vegetais, é fundamental considerar os desafios e preocupações de segurança associados ao seu uso. Mais pesquisas são necessárias para explorar completamente o potencial terapêutico dessas

proteínas e abordar questões relacionadas à sua eficácia, segurança e métodos de administração ideais (KONOZY e OSMAN, 2022).

Dentre as fontes vegetais de lectinas, as sementes de *Moringa oleifera* representam uma alternativa promissora tanto para a nutrição humana quanto para aplicações biomédicas. Os produtos derivados de sua farinha incluem pães, biscoitos, bolos, cookies, hambúrgueres e mingaus infantis (OYEYINKA e OYEYINKA, 2018; SAA et al., 2019). A lectina coagulante extraída das sementes, denominada cMoL, é uma proteína monomérica de aproximadamente 26,5 kDa, termoresistente e com afinidade por glicoproteínas (MEDEIROS et al., 2020). Estudos demonstraram que a cMoL apresenta atividades antitumoral (DE ANDRADE LUZ et al., 2017), antifúngica (SILVA, 2023) e antiparasitária (MEDEIROS et al., 2020), além de ser livre de genotoxicidade (BARROS et al., 2021).

A pele representa cerca de 15% do peso corporal total dos seres humanos e desempenha um papel essencial como primeira linha de defesa contra o ambiente externo. Além de bloquear ameaças como radiação ultravioleta, microrganismos e antígenos, a pele é crucial para a manutenção da homeostase do corpo, regulando diversas funções vitais (CHENG et al., 2024).

O estudo da toxicidade dérmica de compostos naturais é um aspecto crucial na avaliação de sua segurança para uso de um produto terapêutico (NORONHA et al., 2023). Alguns compostos bioativos, como alcaloides, terpenoides e flavonoides presentes em plantas medicinais, podem apresentar efeitos adversos quando aplicados na pele, causando desde irritações leves até reações alérgicas severas (JUCÁ et al., 2020, CAMPOS et al., 2016). A absorção cutânea desses compostos depende de fatores como polaridade, peso molecular e interação com componentes da barreira epidérmica (VIANNA, SILVA e HAMERSKJ, 2011).

Estudos toxicológicos *in vitro* e *in vivo* são essenciais para determinar a dose segura e minimizar riscos, garantindo a eficácia e segurança de compostos em formulações (NORONHA et al., 2023). Assim, a avaliação da toxicidade de biomateriais envolve diversas etapas, incluindo a identificação de alvos

terapêuticos, análise do potencial citotóxico, indução de estresse oxidativo, resposta pró-inflamatória e avaliação de possíveis efeitos genotóxicos (DOMB et al., 2021).

Portanto, este trabalho buscou avaliar a citotoxicidade, toxicidade dérmica e ação anti-infecciosa *in vivo* da lectina coagulante de sementes de *Moringa oleifera* (cMoL).

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Isolamento da lectina coagulante de sementes de *Moringa oleifera* (cMoL).

cMoL foi isolada segundo o procedimento previamente estabelecido por Santos et al. (2009) com adaptações. Primeiramente, foi obtido o extrato salino a partir da homogeneização das sementes (10 g) em 100 mL de NaCl 0,15 M durante 6 horas a 28 °C. Posteriormente, a mistura foi filtrada e centrifugada e o sobrenadante correspondeu ao extrato. As proteínas do extrato foram precipitadas com sulfato de amônio (60% de saturação) e o precipitado obtido (fração proteica) foi solubilizado com NaCl 0,15 M. Em seguida, a fração proteica foi dialisada (4h, 28 °C) com três trocas de água destilada e a última troca de NaCl 0,15 M. A fração proteica dialisada foi aplicada a uma coluna de gel de guar (10 × 1 cm) previamente equilibrada com NaCl 0,15 M a um fluxo de 20mL/h. A lectina cMoL foi eluída da matriz com NaCl 1,0 M. Todo processo de purificação foi acompanhado pelo teste de atividade hemaglutinante (PAIVA & COELHO, 1992) e dosagem proteica (LOWRY et al., 1951).

2.2 Ensaios de viabilidade celular

2.2.1 Cultura

As células da linhagem HEK-293 foram ressuspensas em meio Eagle modificado por Dulbecco (DMEM-Invitrogen®), após duas lavagens com PBS 1X, e contadas utilizando o Countess 3 (Thermo Fisher®). O cultivo foi realizado em meio DMEM suplementado com 10% de soro fetal bovino (Gibco®), 1% L-Glutamina (Sigma®) e antibióticos. Para os ensaios de viabilidade celular, as células foram semeadas (placas de 48 poços / 10⁶ células/ poço) em diferentes esquemas de cultivo celular.

2.2.2 Ensaios de citotoxicidade

As células da linhagem HEK-293 foram incubadas com diferentes concentrações de cMoL (3,125 a 100 µg/mL) por 24 h. Para avaliar o efeito citotóxico da lectina, as células foram centrifugadas e coradas com iodeto de propídio (50 µM). Todas as aquisições foram realizadas por citometria de fluxo (50.000 eventos; plataforma Accuri BD®) e as análises foram realizadas utilizando a plataforma de citometria Accuri e plotados usando o software Prism v.8.0®.

2.3 Ensaio de toxicidade dérmica

O ensaio de toxicidade dérmica de cMoL foi realizado utilizando camundongos Swiss fêmeas (n= 6/grupo), conforme o protocolo da OECD 402 (2017) com aprovação do Comitê de ética no uso de animais (n.º 0065/2023) da Universidade Federal de Pernambuco. Os animais com pele saudável e intacta, foram depilados 24 h antes do início do ensaio, sendo os pelos removidos da área (10% da área total da superfície corporal) dorsal/flanco dos animais. Os animais foram separados nos grupos controle, tratado com NaCl 0,15 M e o grupo cMoL, tratado com a lectina na concentração 200 µg/mL. As amostras foram aplicadas topicamente e uniformemente sobre a área exposta dorsal/flanco.

Após a aplicação, as amostras foram mantidas em contato com a pele com um curativo de gaze porosa e micropore não irritante durante um período

de 24 h. Todos os animais, foram observados imediatamente após a administração e após 30 min, 1h, 2h, 3h e 4h da aplicação das amostras, sendo em seguida, observados diariamente por um período de 14 dias. As alterações na pele e pelagem, olhos, membranas mucosas e nos sistemas autônomo e nervoso central foram observadas. Também foi observado a ocorrência de tremores, convulsões, salivação, diarreia, letargia, sono e coma. Ao final do período experimental, foi realizada a coleta de sangue para a realização de análises bioquímicas e hematológicas. Posteriormente, os animais foram eutanasiados por meio de administração por via intraperitoneal de dose letal de cetamina (300 mg/kg) e xilazina (30 mg/kg) e em seguida, a pele e os órgãos (baço, coração, fígado, pulmões, rim e cérebro) foram coletados para realização das análises histológica.

2.4.1 Análises Histopatológicas

Imediatamente após a retirada da pele, as amostras foram fixadas em formaldeído 10% (v/v) preparado em PBS 0,01 M, pH 7,2 por 48 h e, em seguida, o PBS foi substituído por solução de etanol 70% (v/v). Cada fragmento de pele foi desidratado em concentrações crescentes de etanol, diafanizados em Xilol e incluídos em parafina. Após microtomia (5 µm de espessura), os cortes foram corados pela Hematoxilina Eosina (H&E) e Tricrômico de Masson. Três cortes paralelos foram obtidos para cada espécime e fotografados (aumento de 100x) para quantificação de células polimorfonucleares, mononucleares e fibroblastos/mioblastos e vasos sanguíneos. A produção de colágeno foi avaliada em fragmentos seccionados (3 µm) da lesão corada com PicroSirius.

Para análise histológica dos órgãos fígado, rins, baço e coração foram removidos imediatamente após a eutanásia. Primeiro, os órgãos foram pesados e o peso relativo de cada órgão foi calculado usando a fórmula: $\text{Peso relativo (\%)} = \frac{\text{peso do órgão (g)}}{\text{peso corporal (g)}} \times 100$. Posteriormente, os órgãos foram preparados para microscopia. Para isso, eles foram tratados com uma metodologia á idêntica a que foi usada para preparação da pele. Os blocos obtidos foram então seccionados em fatias de 4 µm de espessura usando um micrótomo rotativo Leica (RM2125RT). As secções foram coradas usando

hematoxilina e eosina e Tricrômico de Masson. As amostras foram avaliadas qualitativamente para detectar qualquer dano tecidual. Para capturar as imagens, foi utilizado um microscópio Leica brightfield (DM500) equipado com uma câmera Leica (ICC50W), com ampliações de 100 × para todos os órgãos.

2.4 Modelo de infecção usando larvas de *Tenebrio molitor*

Larvas de *Tenebrio molitor* (aproximadamente 100 mg) foram randomizadas em 3 grupos (n =10/grupo) e higienizadas com álcool 70%. Os grupos da toxicidade apenas da lectina cada larva recebeu 10 µL de cMoL nas concentrações avaliadas e o grupo controle recebeu 10 µL de PBS. Já para o grupo profilático as larvas receberam um tratamento duas horas antes da infecção com as concentrações de cMol após as duas horas de tratamento cada larva recebeu 10 µL de suspensão de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 ($1,0 \times 10^9$ UFC/larva) através da membrana ventral entre o penúltimo e o terceiro segmento abdominal (em direção à cauda). O grupo tratamento foi infectado e após 2 h de infecção, os grupos de larvas receberam 10 µL de cMoL em diferentes doses (100 e 200 µg/mL) (COLASSO et al., 2020). Os animais foram incubados a 37 °C. A viabilidade foi avaliada diariamente por ausência de movimento. Larvas inoculadas com o microrganismo e tratados com PBS foram utilizados como controle negativo (infectados por *S. aureus* grupo), enquanto larvas não infectadas foram o controle positivo. A morte de todas as larvas do grupo experimental ou a transição para a forma de pupa determinou o final do experimento.

2.5 Análise Estatística

Os resultados foram expressos como média $\pm$ desvio padrão da média. As porcentagens de inibição foram calculadas como a média das inibições obtidas para cada experimento individual. Os gráficos e a avaliação estatística dos resultados foram realizados por meio de análise de variância (ANOVA) no

programa Graphpad Prism 5.0, seguida pelo teste de Boferroni. Adotou-se o nível de significância menor a 0.05.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Toxicidade de cMoL

3.1.1 Ensaio de citotoxicidade

A incubação de 24 h das células da linhagem HEK-293 com cMoL (3,125 - 100 µg/mL) não resultou em morte celular significativa nas concentrações testadas. Neste ensaio, a viabilidade celular foi de 94,65%, indicando que cMoL não foi citotóxica para essas células (Tabela 1, Figura 01). Os resultados também apresentaram diferença estatística significativa quando comparadas com o controle positivo de morte celular onde foi usado DMSO 10%.

Figura 1. Viabilidade de células da linhagem HEK-293 incubadas em diferentes concentrações de cMoL. As colunas representam a média $\pm$ DP (n = 4). (-) Controle negativo; (+) Controle positivo de necrose (Dimetilsulfóxido 10%); cMoL - lectina coagulante de sementes de *M. oleifera*.

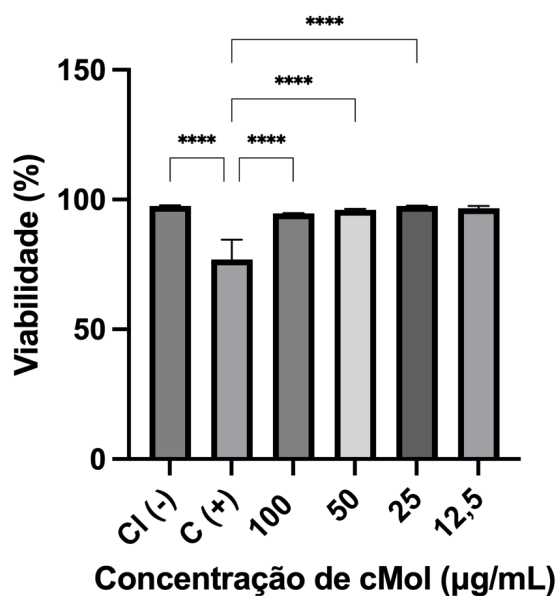


Tabela. 01. Viabilidade/mortalidade de células da linhagem HEK-293 incubadas em diferentes concentrações de cMoL. Valores expressos em porcentagem, onde: V: viabilidade celular e M: morte celular.

	Controle (-)		Controle (+)		100 µg/mL		50 µg/mL	
	V (%)	M (%)	V (%)	M (%)	V (%)	V (%)	V (%)	M (%)
1	97,6	2,4	75,6	24,4	94,5	5,5	96,5	3,5
2	97,8	2,2	69,1	30,9	94,8	5,2	96,1	3,9
3	97,4	2,6	87,5	12,5	94,6	5,4	95,7	4,3
4	97,6	2,4	75,6	24,4	94,6	5,4	96,1	3,9
	25 µg/mL		12,5 µg/mL		6,25 µg/mL		3,123 µg/mL	
	V (%)	M (%)	V (%)	M (%)	V (%)	M (%)	V (%)	M (%)
1	97,6	2,4	95,7	4,3	97,5	2,5	98,5	1,5
2	97,3	2,7	96,7	3,3	97,4	2,6	97,4	2,6
3	97,7	2,3	97,7	2,3	98,3	1,7	96,8	3,2
4	97,6	2,4	96,7	3,3	97,5	2,5	97,4	2,6

3.2 Ensaio de toxicidade dérmica

A administração dérmica de cMoL na dose única de 200 µg/kg de peso corporal, não produziu sinais de toxicidade ou morte em todos os animais experimentais. Os camundongos permaneceram ativos e responsivos a estímulos, sem sinais clínicos ou morte que pudessem estar associados à toxicidade da lectina. Os ganhos de peso corporal foram iguais no grupo controle ($105,7 \pm 40,1$ %) quanto no grupo tratado com cMoL ($105,0 \pm 5,6$ %) (Tabela 2). Entretanto, quando diz respeito ao consumo de alimentos no grupo controle o consumo foi maior cerca de 17,2% em comparação com grupo tratado com cMoL. No entanto, as diferenças não foram estatisticamente significativas.

Tabela 2. Ganho de peso corporal e consumo de alimentos de camundongos dos grupos controle e tratados topicamente com dose única (200 µg/mL) de cMoL, após 14 dias. Valores expressos como média $\pm$ SEM, n = 6 animais/grupo, $p > 0,05$ (teste T de amostras independentes).

	Controle	cMoL (200 µg/mL)
Fêmeas		
Peso Corporal Inicial (g)	$29 \pm 1,5$	$26,3 \pm 9,9$
Peso Corporal Final (g)	$30,6 \pm 11,7$	$27,6 \pm 1,9$
Ganho de Peso Corporal (%)	$105,7 \pm 40,1$	$105,0 \pm 5,6$
Ingestão de Alimentos (g)	$214 \pm 4,7$	$177 \pm 4,0$
Consumo de Água (mL)	$45 \pm 7,7$	$42 \pm 5,7$

Quando se trata da análise da toxicidade *in vivo*, avaliação do ganho de peso, consumo de água e alimentos é uma ferramenta de extrema importância para determinar o uso seguro de um composto uma vez que uma diminuição do peso corporal pode estar relacionada à redução apetite, bem como déficits nutricionais associados a deficiências na absorção de micronutrientes, vitaminas e minerais ou até mesmo intoxicação. A ingestão de água e nutrientes é de suma importância para a manutenção da homeostase dos processos fisiológicos (TEKE; KUETE, 2014). Demonstrando que a lectina cMoL tem um baixo teor de toxicidade.

Estatisticamente, não houve diferença significativa no ganho de peso relativo de órgãos entre o grupo tratado com cMoL 200 µg/mL e o controle (Tabela 3). Além disso, outras características, como coloração e textura, dos órgãos permaneceram inalteradas. Da mesma forma, a administração tópica da lectina não causou alterações significativas ($P > 0,05$) em parâmetros bioquímicos como proteínas totais, creatinina, triglicérides, GGT quando comparados aos grupos controle (Tabela 4). No entanto, em comparação com o grupo controle, a atividade sérica do Aspartato aminotransferase (AST) foi maior, enquanto os níveis de Alanina aminotransferase (ALT) foi maior no grupo de tratamento controle comparado com o tratado com cMoL.

Tabela 3. Peso relativo do órgão (g/100 g de peso corporal) de camundongos dos grupos controle e tratados topicamente com dose única (200 µg/mL) de cMoL, após 14 dias. Valores expressos como média $\pm$ SEM, $n = 6$ animais/grupo, $p > 0,05$ (teste T de amostras independentes).

		Controle	cMoL (200 µg/mL)
Órgãos	Coração (g)	0,13 $\pm$ 0,01	0,15 $\pm$ 0,01
	Pulmão (g)	0,20 $\pm$ 0,02	0,23 $\pm$ 0,05
	Fígado (g)	1,33 $\pm$ 0,35	1,70 $\pm$ 0,26
	Rins (g)	0,37 $\pm$ 0,01	0,43 $\pm$ 0,05
	Baço (g)	0,12 $\pm$ 0,02	0,12 $\pm$ 0,03

Alterações no peso do corpo e dos órgãos são indicações claras de danos causados pela substância que está sendo testada (AZALEA BERENGUER RIVAS et al., 2013). Indo na contramão do nosso estudo que não apresentou alterações significativas nos pesos dos órgãos, um estudo usando ácido heptafluorobutírico (PFBA) incorporado em muitos produtos da indústria se mostrou tóxico, levando a um aumento no peso dos órgãos (fígado e rins) após uma exposição subcrônica de 28 dias de exposição dérmica (WEATHERLY et al., 2021).

Estudos mostraram que, independente de como os produtos químicos entram no corpo, eles podem chegar ao fígado através do sistema circulatório e sofrem biotransformação (RUSYN; PETERS; CUNNINGHAM, 2006). cMoL não

promoveu alterações nos parâmetros bioquímicos e hematológicos como mostram os dados das 4 e 5, respectivamente.

Tabela 4. Parâmetros bioquímicos do sangue de camundongos dos grupos controle e tratados topicamente com dose única (200 µg/mL) de cMoL. CT: Colesterol Total; ALT: Alanina aminotransferase; AST: Aspartato aminotransferase; GGT: gama-glutamilttransferase. Os valores representam a média ± SEM (n=6/grupo).

		Controle	cMoL (200 µg/mL)
Parâmetros	Proteína total (g/dL)	5,17 ± 0,25	5,37 ± 0,20
	Triglicérides (mg/dL)	163,64 ± 7,23	159,87 ± 8,93
	TC (mg/dL)	161,61 ± 7,14	157,88 ± 8,82
	ALT (U/L)	37,86 ± 6,98	25,09 ± 5,85
	AST (U/L)	52,33 ± 2,56	66,82 ± 5,67
	GGT (U/L)	9,28 ± 4,00	9,54 ± 3,25
	Creatina (mg/dL)	0,91 ± 0,10	0,61 ± 0,25
	Ureia (mg/dL)	49,27 ± 1,29	51,81 ± 0,99

Tabela 5. Parâmetros hematológicos de camundongos dos grupos controle e tratados topicamente com dose única (200 µg/mL) de cMoL. Os valores representam a média ± SEM (n=6/grupo).

		Controle	cMoL (200 µg/mL)
Hematologia	Hemácias (10 ⁶ /mm ³)	9,774 ± 1,58	9,435 ± 1,81
	Hemoglobina (g/dL)	16,260 ± 2,74	15,950 ± 2,90
	Hematócrito (%)	53,860 ± 9,38	51,733 ± 10,67
	Leucócitos (mm ³)	5760,0 ± 3035,2	4960,0 ± 1911,2
	Segmentados (%)	20,200 ± 12,696	14,833 ± 2,714
	Eosinófilos (%)	-	-

O uso de algumas substâncias na pele pode gerar processos como a alergia que é um estado de hipersensibilidade da pele ou uma resposta imune excessiva a um antígeno, e se manifesta como a formação de um edema e/ou eritema (OLUSEGUN, MARTINCIGH, 2021). O eritema consiste em uma vermelhidão da pele ou membranas mucosas, causada por hiperemia dos capilares superficiais, enquanto o edema é caracterizado por um acúmulo de excesso de líquido seroso entre as células do tecido (LULEKAL et al., 2019).

Além disso, estudos com animais também demonstram que o uso de algumas substâncias como, ftalato de diisononil (DINP), muito usado na plastificante em muitos produtos, além de uma irritação na pele, seu uso contínuo pode induzir estresse oxidativo e alterações histopatológicas no fígado e no rim após 28 dias de exposição dérmica contínua (LIANG; YAN, 2020).

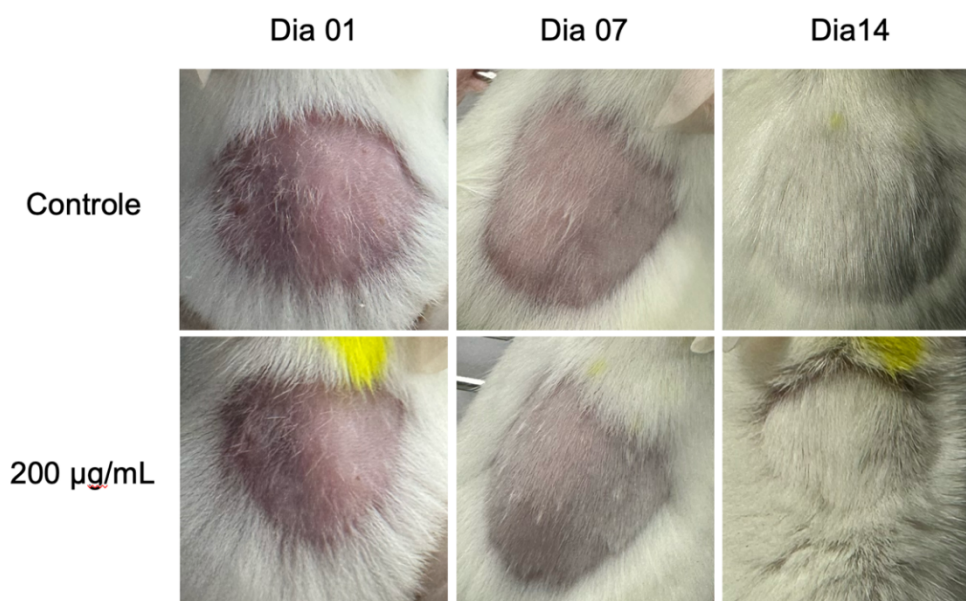
De acordo com análise do crescimento capilar, foi observado um ótimo estímulo de crescimento no grupo tratado com cMoL 200 µg/mL, onde foi possível observar que em 100% dos animais os pelos já se aprestavam no estágio P4 a partir do décimo segundo dia (Tabela 7). Resultado esse que pode também ser observado na análise macroscópica (Figura 2), onde no dia 07 o crescimento capilar do grupo tratado com cMoL já se encontrava 83% no estágio P2, enquanto o grupo controle apenas 50%.

Tabela 7. Avaliação do crescimento de pelos em camundongos dos grupos controle e tratados topicamente com dose única (200 µg/mL) de cMoL. P1: Sem crescimento aparente de pelos. P2: Estágio inicial de crescimento do cabelo. P3: Crescimento localizado dos pelos, com aparecimento de falhas. P4: Crescimento capilar avançado com poucas falhas visíveis.

TRATAMENTO	CRESCIMENTO DE PELOS						
	DIAS						
	2	4	6	8	10	12	14
Controle							
Animal 1	P1	P1	P1	P1	P2	P4	P4
Animal 2	P1	P1	P1	P2	P3	P4	P4
Animal 3	P1	P1	P1	P1	P2	P4	P4
Animal 4	P1	P1	P1	P2	P3	P4	P4

Animal 5	P1	P1	P1	P1	P3	P4	P4
Animal 6	P1	P1	P2	P2	P2	P4	P4
cMoL 200 µg/mL							
Animal 1	P1	P1	P1	P2	P4	P4	P4
Animal 2	P1	P1	P1	P2	P3	P4	P4
Animal 3	P1	P1	P1	P1	P4	P4	P4
Animal 4	P1	P1	P1	P2	P3	P4	P4
Animal 5	P1	P1	P1	P2	P3	P4	P4
Animal 6	P1	P1	P1	P2	P3	P4	P4

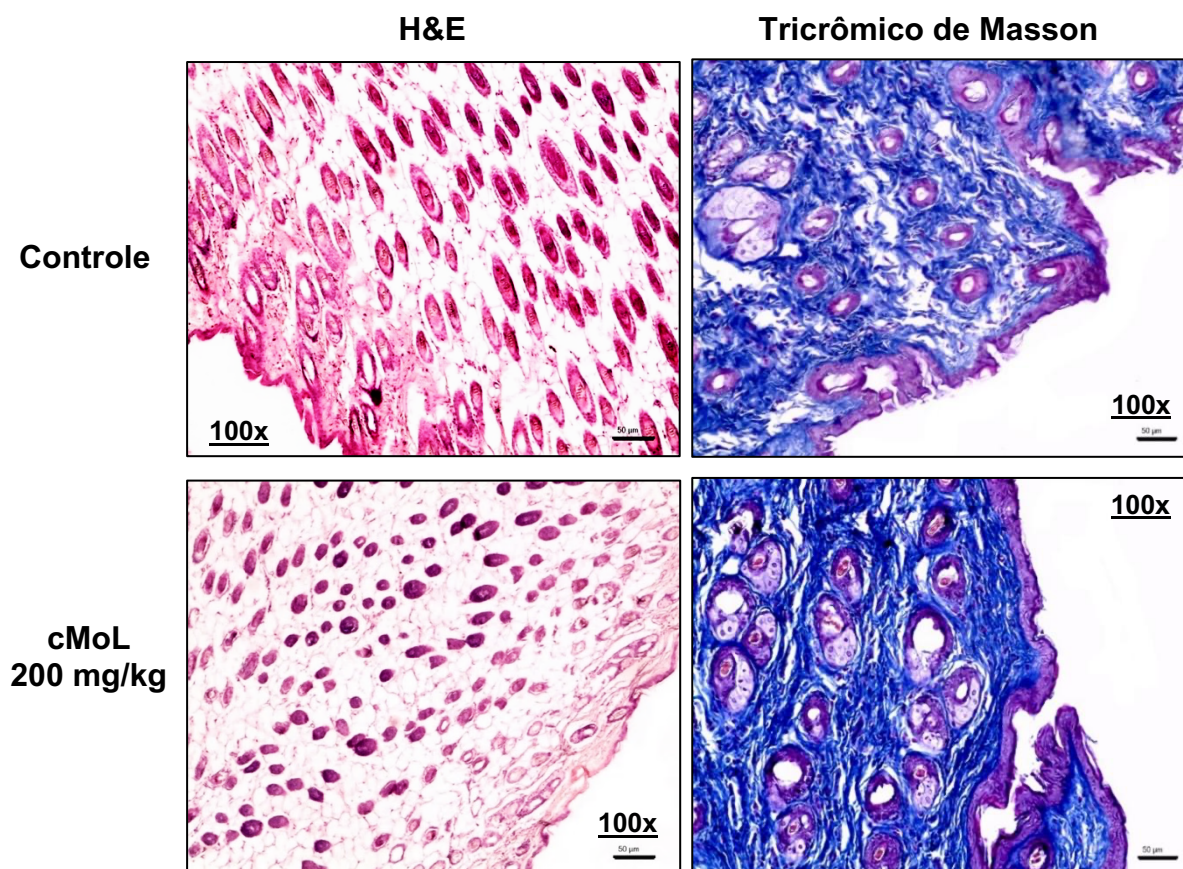
Figura 2. Avaliação macroscópica da área de aplicação tópica de NaCl 0,15 M (grupo controle) e cMoL (200 µg/mL).



Quando se trata do crescimento de pelos e o uso de produtos naturais, isso pode estar muito associado a presença de compostos que estimulam a expressão de genes, que promovem o aumento do crescimento de pelo. Estudo demonstrou o estímulo de fatores de crescimento incluindo o fator de crescimento endotelial vascular e o fator de crescimento dos queratinócitos, a partir do uso de um extrato etanólico de *Carthamus tinctorius* Flore que teve o poder de promover o crescimento capilar (JUNLATAT; SRIPANIDKULCHAI, 2014).

Corroborando com as análises macroscópicas, as duas análises microscópicas da pele da área onde foram aplicadas a concentração de cMoL (Figura 3), apresentaram uma derme e epiderme morfologicamente preservadas, sem sinais de infiltrados inflamatórios, edema ou hemorragias nos locais analisados, as duas análises também demonstraram similaridade nos resultados, quanto a deposição de colágeno na área coletada, onde não foi possível notar diferenças significativas, pois não houveram alterações na rede de colágeno, as duas se mantiveram bem semelhantes quanto a esses parâmetros.

Figura 3. Cortes histológicos da pele de animais dos grupos controle ou tratados dermicamente com dose única de cMoL (200 µg/mL). Nenhum sinal de degeneração, necrose/inflamação ou outras alterações foram encontrados. Coloração de hematoxilina-eosina e Tricrômico de Masson foi usada. Ampliação: 100x.



A análise histopatológica tanto em H&E e Tricrômico de Masson revelou que a arquitetura de todos os órgãos analisados se manteve dentro da normalidade nos animais tratados com cMoL na concentração de 200 µg/mL e aqueles do grupo controle, com células em tamanhos normais e sem alterações patológicas visíveis (Figuras 4 e 5). Os fígados apresentaram preservação da estrutura do tecido hepático, sem nenhum sinal de degeneração ou infiltrado inflamatório, e as estruturas renais mostraram glomérulos renais íntegros, incluindo compartimento glomerular, tubular, vascular e intersticial preservados. Os baços também se mantiveram preservado sem modificações histomorfológicas, incluindo cápsula, polpa branca e vermelha preservadas, ausência de processos congestivos e reatividade e macrófagos típicos. Os corações mantiveram suas estruturas endocárdica e miocárdica preservadas, com fibras musculares cardíacas típicas e ausência de infiltrados inflamatórios.

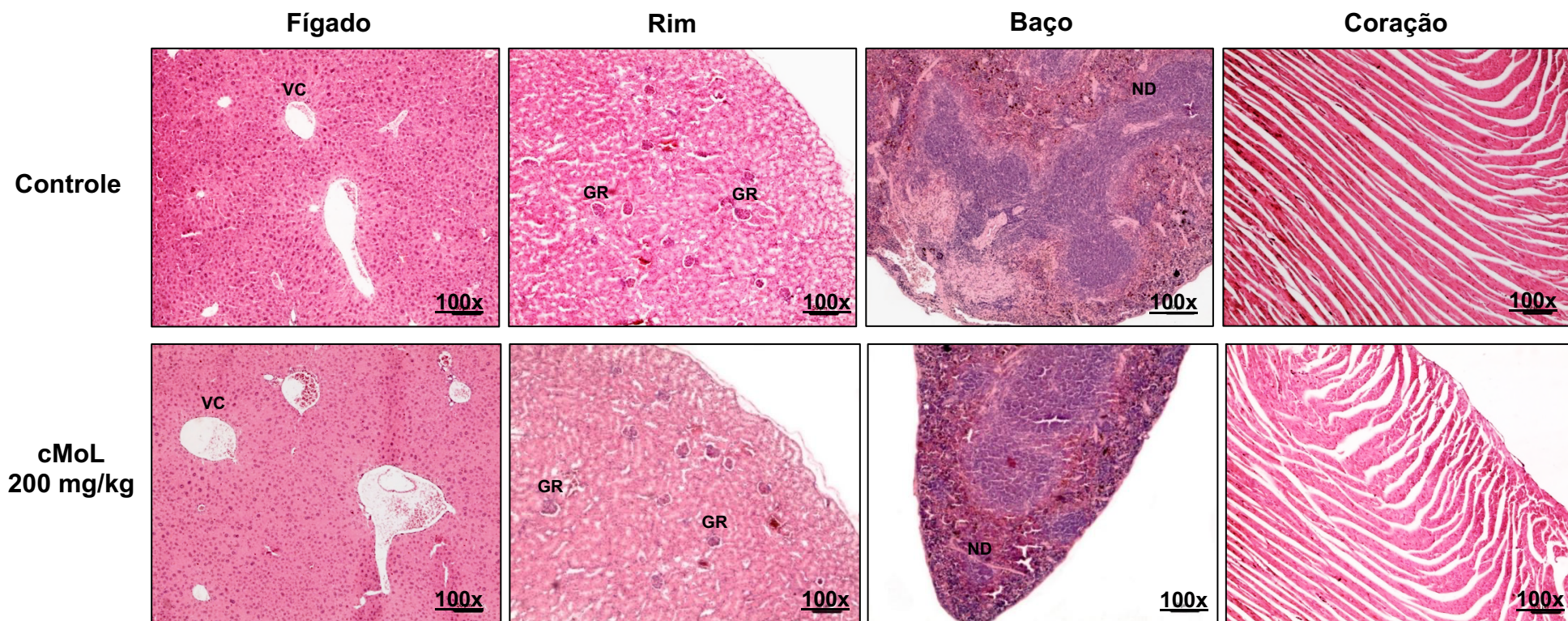


Figura 4. Cortes histológicos do fígado, rim, baço e coração de animais dos grupos controle ou tratado com uma dose única de cMoL (200 µg/mL). Fígados: a veia centrolobular (VC) é vista em todas as imagens. Rim: Glomérulos renais (GR) são preservados e ordenados. Baço: Os linfonodos (ND) são bem definidos nos grupos controle e tratado. Fibras musculares cardíacas bem definidas nos grupos controle e tratado. Nenhum sinal de degeneração, necrose/inflamação ou outras alterações foram encontrados. Coloração de hematoxilina-eosina foi usada. Ampliação: 100x

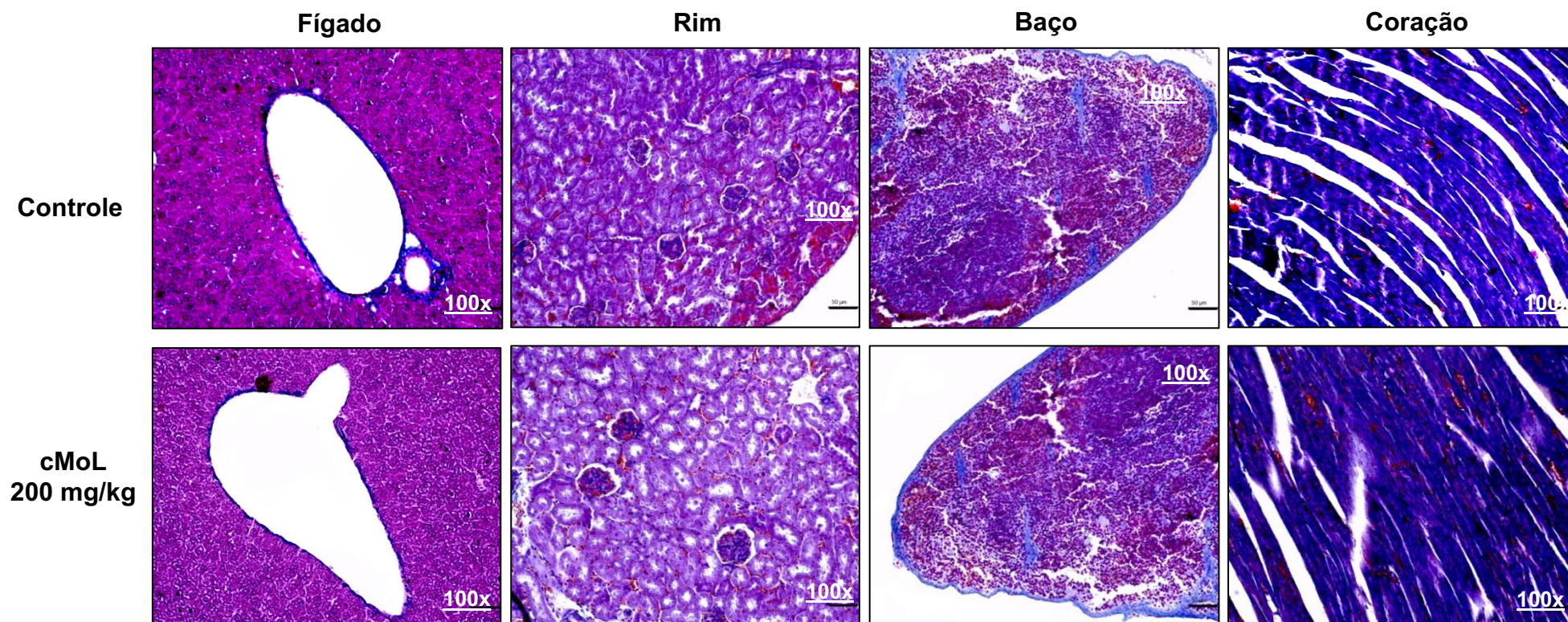
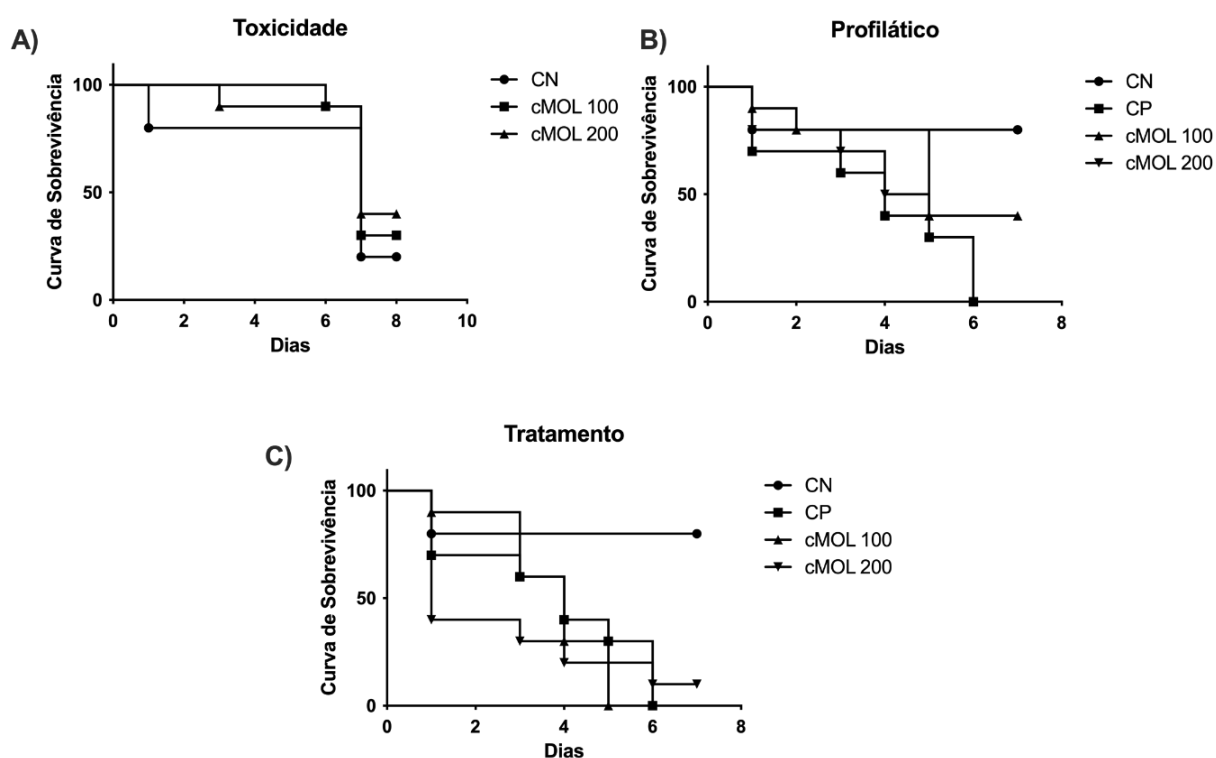


Figura 5. Cortes histológicos do fígado, rim, baço e coração de animais dos grupos controle ou tratados com dose única de cMoL (200 $\mu\text{g/mL}$). Nenhum sinal de degeneração, necrose/inflamação ou outras alterações foram encontrados. Coloração de Tricrômico de Masson foi usada. Ampliação: 100x.

3.3 Sobrevivência de larvas de *Tenebrio molitor* infectadas ou não com *Staphylococcus aureus* tratadas com cMoL

A curva de sobrevivência de larvas de *T. molitor* tratadas com PBS e cMoL nas concentrações de 100 e 200 µg/mL (Figura 6a) mostram que cMoL não apresentou toxicidade em nenhuma das doses testadas. Quando analisado o tratamento profilático (Figura 6b), foi observado que cMoL na concentração de 100 µg/mL apresentou maior potencial no aumento de sobrevida das larvas infectadas, aumentando em média um dia de sobrevida das larvas. Já nas tratadas após a infecção (Figura 6c), foi observado um aumento de sobrevida das larvas em um dia, mas na concentração de 200 µg/mL de cMoL quando comparado aos outros grupos também tratados 2 horas após a infecção. O grupo infectado teve uma sobrevivência média de 6 dias, enquanto o grupo tratado com cMoL no dia sete ainda apresentava no tratamento profilático com 100 µg/mL uma sobrevivência de 40% (Figura 6b), enquanto no grupo tratamento com 200 µg/mL ainda apresentava uma sobrevida de 10% (Figura 6c). Os grupos tratados de maneira profilática e após infecção apresentaram diferenças significativas quando comparados ao controle. O aumento de sobrevida nos grupos tratados com a lectina, pode ser devida a interação da lectina com gliconjugados com consequente internalização e indução de respostas celulares. A ligação de lectinas a componentes da parede celular de bactérias Gram-positivas e negativas, como a ácidos teicóicos e lipossacarídeos, pode desencadear em alterações na permeabilidade e absorção de nutrientes ou induzir a indução de estresse oxidativo (DA SILVA et al., 2022).

Figura 6. Avaliação dos efeitos anti-infecciosos da lectina cMoL contra infecção por *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 em larvas de *Tenebrio molitor*. **A)** grupo tratado apenas com a cMoL e PBS; **B)** grupo tratado com a cMoL e PBS duas horas antes da infecção; **C)** grupo tratado com a cMoL e PBS duas horas após a infecção; onde: CN: Controle não infectado; CP: controle infectado com *Staphylococcus aureus*; cMoL 100: Tratado com 100 µg/mL de cMoL; cMoL 200: Tratado com 200 µg/mL de cMoL.



4. CONCLUSÃO

cMoL não apresentou efeito tóxico, em células epiteliais e a avaliação de parâmetros bioquímicos e hematológicos e padrão histológico revelou que a administração tópica de cMoL na dosagem de 200 µg/mL, não induziu toxicidade dérmica. A pele também manteve todas as suas estruturas preservadas após o tratamento com cMoL, posicionando a lectina como um candidato promissor para o desenvolvimento de novos fitofármacos.

O estudo também demonstrou o efeito anti-infeccioso de cMoL em modelo de infecção *in vivo*. A administração profilática com a cMoL preveniu eficientemente a infecção por *S. aureus* aumentando em um dia o tempo de sobrevivência.

REFERENCIAS

- AMORIM, Poliana Karla et al. Purification, partial characterization, toxicity assessment, and antimicrobial activity of a lectin from *Bixa orellana* L. leaves. **Industrial Crops and Products**, v. 212, p. 118291, 2024.
- AZALEA BERENGUER RIVAS, C. et al. Acute oral toxicity of *Azadirachta indica* (Neem Tree). **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 18, n. 3, p. 502–507, 2013.
- BARROS, M. C. DE et al. Cytotoxicity and genotoxicity assessment of the extract and lectins from *Moringa oleifera* Lam. Seeds / Avaliação da citotoxicidade e genotoxicidade do extrato e lectinas das sementes de *Moringa oleifera* Lam. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 10, p. 94854–94869, 4 out. 2021.
- CAMPOS, S. C. et al. Toxicidade de espécies vegetais. **Revista Brasileira de plantas medicinais**, v. 18, p. 373-382, 2016.
- CARNEIRO, Diego C. et al. A patent review of the antimicrobial applications of lectins: Perspectives on therapy of infectious diseases. **Journal of Applied Microbiology**, v. 132, n. 2, p. 841-854, 2022.
- CHENG, Hongwei et al. Transdermal characteristic study of bovine sialoglycoproteins with anti-skin aging and accelerating skin wound healing. **Journal of Cosmetic Dermatology**, v. 23, n. 12, p. 4239-4248, 2024.
- COLASSO, A. H. M. et al. The latex of *Euphorbia tirucalli* inhibits staphyloxanthin production and protects *Tenebrio molitor* larvae against *Staphylococcus aureus* infection. **Natural Product Research**, v. 34, n. 24, p. 3536–3539, 16 dez. 2020.
- DA SILVA, G. C. et al. Antibacterial and antitumor activities of a lectin-rich preparation from *Microgramma vacciniifolia* rhizome. **Current Research in Pharmacology and Drug Discovery**, v. 3, p. 100093, 1 jan. 2022.
- DE ANDRADE LUZ, L. et al. Cytotoxicity of the coagulant *Moringa oleifera* lectin (cMoL) to B16-F10 melanoma cells. **Toxicology in Vitro**, v. 44, p. 94–99, 1 out. 2017.
- DE OLIVEIRA MARINHO, Amanda et al. Assessment of acute toxicity, genotoxicity, and anti-inflammatory activity of SteLL, a lectin from *Schinus terebinthifolia* Raddi. Leaves, in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 333, p. 118496, 2024.
- DOMB, Abraham J. et al. Safety Evaluation of Nanotechnology Products. *Pharmaceutics*, [S.l.], v. 13, n. 10, p. 1615-1662, Oct. 2021. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1999-4923/13/10/1615>.

JUCÁ, Mércia Marques et al. Flavonoids: biological activities and therapeutic potential. **Natural product research**, v. 34, n. 5, p. 692-705, 2020.

JUNLATAT, J.; SRIPANIDKULCHAI, B. Hair Growth-Promoting Effect of Carthamus tinctorius Floret Extract. **Phytotherapy Research**, v. 28, n. 7, p. 1030–1036, 1 jul. 2014.

KONOZY, Emadeldin Hassan E.; OSMAN, Makarim El-fadil M. Plant lectin: a promising future anti-tumor drug. **Biochimie**, v. 202, p. 136-145, 2022.

LIANG, F.; YAN, B. Oxidative damage in the liver and kidney induced by dermal exposure to diisononyl phthalate in Balb/c mice. **Toxicology and Industrial Health**, v. 36, n. 1, p. 30–40, 1 jan. 2020.

LIMA, Alice Calderipe de et al. A ação biológica de lectinas na indução da proliferação de células epiteliais envolvidas no processo de cicatrização cutânea. 2022.

LOPES, Tiago Deiveson Pereira. Caracterização estrutural e ação cicatrizante de uma proteína ligante à quitina de sementes de Moringa oleifera com atividade anti-inflamatória. 2022.

LULEKAL, E. et al. Phytochemical analysis and evaluation of skin irritation, acute and sub-acute toxicity of Cymbopogon citratus essential oil in mice and rabbits. **Toxicology Reports**, v. 6, p. 1289–1294, 1 jan. 2019.

MEDEIROS, M. L. S. et al. In vitro effects of Moringa oleifera seed lectins on Haemonchus contortus in larval and adult stages. **Experimental Parasitology**, v. 218, p. 108004, 1 nov. 2020.

NORONHA, David Camargo et al. Avaliação in vitro da toxicidade dos nanomateriais com enfoque nos modelos de organs-on-a-chip: uma revisão da literatura. 2023.

OLUSEGUN, Olufunmilayo A.; MARTINCIGH, Bice S. Allergic contact dermatitis: a significant environmental and occupational skin disease. **International Journal of Dermatology**, v. 60, n. 9, p. 1082-1091, 2021.

OYEYINKA, Adewumi T.; OYEYINKA, Samson A. Moringa oleifera as a food fortificant: Recent trends and prospects. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, v. 17, n. 2, p. 127-136, 2018.

RUSYN, I.; PETERS, J.; CUNNINGHAM, M. Modes of Action and Species-Specific Effects of Di-(2-ethylhexyl)Phthalate in the Liver. **Critical Reviews in Toxicology**, v. 36, n. 5, p. 459–479, 1 jul. 2006.

SAA, Romuald Willy et al. Treatments and uses of Moringa oleifera seeds in human nutrition: A review. **Food science & nutrition**, v. 7, n. 6, p. 1911-1919, 2019.

SANTOS, A. F. S. et al. Isolation of a seed coagulant Moringa oleifera lectin. **Process Biochemistry**, v. 44, n. 4, p. 504–508, 1 abr. 2009.

SANTOS, Andréa FS et al. Lectins: Function, structure, biological properties and potential applications. 2014.

SANTOS, Leilane Marina Moraes dos. Investigação do potencial antifúngico de lectina de sementes de Moringa oleífera (WSMoL) contra espécies de Candida e Cryptococcus. 2021.

SHANE, H. L. et al. Immunotoxicity and allergenic potential induced by topical application of perfluorooctanoic acid (PFOA) in a murine model. **Food and Chemical Toxicology**, v. 136, p. 111114, 1 fev. 2020.

SILVA, Nathália Regina Galvão; ARAÚJO, Francielly Negreiros de. Antibacterial activity of plant lectins: a review. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 64, p. e21200631, 2021.

SILVA, S. S. S. DA. Avaliação da atividade antifúngica da lectina coagulante das sementes de Moringa oleifera contra Cryptococcus. 26 abr. 2023.

TEKE, G. N.; KUETE, V. Acute and Subacute Toxicities of African Medicinal Plants. **Toxicological Survey of African Medicinal Plants**, p. 63–98, 1 jan. 2014.

Vianna, D. R.; Silva, B. V.; Hamerski, L. Eletroporação e Iontoforese para Liberação de Fármacos Através da Pele. *Rev. Virtual Quim.*, 2 (4), 271-279, 2011.

WEATHERLY, L. M. et al. Systemic toxicity induced by topical application of heptafluorobutyric acid (PFBA) in a murine model. **Food and Chemical Toxicology**, v. 156, p. 112528, 1 out. 2021.

4.2 ARTIGO 2

Desenvolvimento e caracterização de filme bioadesivo a base de galactomanana incorporado com lectina de sementes de *Moringa oleifera* (cMoL)

Simeone Júlio dos Santos Castelo Branco¹, Lucas dos Santos Silva², Izadora Souza Soeiro Silva ², Mauro Victor Castro Lemos, José Victor Trindade Belo, Valdenice Ferreira dos Santos³, Edilausson Moreno Carvalho⁴, Luana Cassandra Breitenbach Barroso Coelho¹, Thiago Henrique Napoleão¹, Luís Cláudio Nascimento da Silva², Patrícia Maria Guedes Paiva¹.

1. Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Cidade Universitária, 50670-420, Recife, Pernambuco, Brasil.

2. Laboratório de Biologia Microbiana, Universidade Ceuma, Matriz, 65075-120, São Luís, Maranhão, Brasil.

3. Laboratório das Infecções do Trato Respiratório, Universidade Ceuma, Matriz, 65075-120, São Luís, Maranhão, Brasil.

4. Laboratório de Odontologia, Universidade CEUMA, Matriz, São Luís, 65075-120, MA, Brasil.

RESUMO

Curativos avançados (CA) surgem como uma alternativa promissora para otimizar a cicatrização, pois utilizam materiais ou biomateriais capazes de atuar em todas as fases do processo de regeneração tecidual. Esse estudo buscou desenvolver e caracterizar um filme bioadesivo a base de galactomanana incorporado com lectina de sementes de *Moringa oleifera* (cMoL) para aplicações em curativos. Os filmes bioadesivos desenvolvidos com 100 e 200 µg/mL de cMoL foram analisados quanto às características morfológicas, mecânicas e físico-químicas (espessura, umidade, rugosidade, cor, pH,

hemocompatibilidade) e quanto à toxicidade em células Vero no tempo de 24 e 48 horas. A incorporação da cMoL nas duas concentrações não alterou parâmetros como peso, espessura, umidade, pH, rugosidade, cor e características mecânicas do filme, desde que esses parâmetros foram similares ao do filme sem a adição da lectina. Os filmes desenvolvidos contendo cMoL não apresentaram atividade hemolítica bem como não apresentaram toxicidade em células VERO sendo detectada viabilidade celular acima de 90% e próxima a 70%, após 24 e 48 horas de contato com os filmes, respectivamente. O filme de galactomanana incorporou cMoL sem alterações significativas em suas propriedades físico-químicas e mecânicas, foi hemocompatível e não apresentou toxicidade para células Vero. O filme contendo cMoL, uma lectina com ação anti-infecciosa, é uma alternativa promissora de curativo para cicatrização de ferida.

1 INTRODUÇÃO

A pele é o maior órgão do corpo humano e exerce funções essenciais em diversos processos fisiológicos, incluindo a manutenção da hidratação, a proteção contra agentes químicos e patógenos, a iniciação da síntese de vitamina D, a excreção de substâncias e a regulação térmica. Dessa forma, lesões cutâneas severas podem comprometer a homeostase do organismo e, em casos extremos, levar ao óbito (BORENA et al., 2015).

As feridas cutâneas são classificadas de acordo com a duração dos estágios do processo de cicatrização. Quando esse processo ocorre de forma ordenada e dentro dos tempos fisiológicos esperados, a reparação tecidual é completa, tanto em termos anatômicos quanto funcionais, geralmente dentro de um período de até três meses após a lesão inicial. Contudo, quando isso não acontece, surgem as chamadas de feridas crônicas (FIRLAR et al., 2022).

Esses tipos de feridas influenciam diretamente na qualidade de vida das pessoas e estão associadas diretamente a encargos físicos, emocionais e econômicos significativos, tanto em nível individual quanto social, tudo isso devido aos seus longos períodos de tratamento (FIRLAR et al., 2022; OLSSON et al., 2019).

Assim diante dos impactos significativos das feridas crônicas na saúde dos pacientes e nos aspectos socioeconômicos, o desenvolvimento de novos produtos contendo agentes antimicrobianos e/ou compostos cicatrizantes representa uma estratégia essencial para otimizar o tratamento e promover a recuperação eficaz dos tecidos lesionados (RIBEIRO et al., 2019).

Os curativos avançados (CA) aparecem como uma alternativa, pois são compostos por diferentes materiais que podem facilitar o processo de cicatrização em todas as suas fases. Esses novos produtos muitas vezes conseguem permanecer ativos no leito da ferida por vários dias, reduzindo o número de medicamentos e procedimentos necessários para sua substituição (TOTTOLI et al., 2020).

Um curativo de filme é uma camada fina e opticamente transparente de material polimérico usada para fornecer uma barreira contra contaminação externa e danos, mantendo o ambiente da ferida úmido. Eles podem ser preparados para ter propriedades aderentes, permeáveis a gases e antimicrobianas (MEULENEIRE, 2014). Esses filmes são formados a partir de polímeros, polissacarídeos, que servem como matrizes transportadoras para o ingrediente farmacêutico ativo (BAZÁN et al., 2023).

As lectinas que são proteínas de origem não imune que se ligam a carboidratos, esse grupo heterogêneo de proteínas diferencia-se dos anticorpos por não ter origem no sistema imunológico e das enzimas ligantes de carboidratos por não promoverem modificações estruturais nos carboidratos aos quais se ligam, como ocorre em processos enzimáticos. Embora tenham sido inicialmente isoladas de plantas, as lectinas possuem uma distribuição universal, estando presentes em organismos que variam desde vírus até mamíferos (DA SILVA et al., 2022).

A lectina coagulante de *Moringa oleifera* (cMoL) integra um distinto grupo de lectinas extraídas das sementes dessa planta, pertencente à família Moringaceae. Estruturalmente, a cMoL é uma proteína monomérica com massa molecular estimada em aproximadamente 26,5 kDa. Seu isolamento e caracterização têm despertado interesse científico devido às suas propriedades biológicas e potenciais aplicações em biotecnologia e saúde (ARAÚJO et al., 2013).

Portanto, este trabalho buscou desenvolver e caracterizar filmes a base de galactomanana contendo cMoL, visando sua aplicação no tratamento de cicatrização de lesões cutâneas.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Desenvolvimento e caracterização do filme a base de Galactomanana

2.1.1 Preparação de filmes bioadesivos contendo cMoL

Os componentes da formulação foram utilizados nas seguintes concentrações: 1,2% de goma de guar (p/v) e 2% de glicerol (v/v), com base em protocolo previamente proposto (BAZÁN et al., 2023). Inicialmente, a goma de guar foi solubilizada em água destilada à temperatura ambiente sob agitação mecânica constantemente. Após homogeneização, o glicerol e cMoL (100 e 200 µg/mL) foram adicionados à solução filmogênica. Posteriormente, a solução foi colocada em placas de Petri (90 × 15 mm) e seca a 37 °C para formar um filme flexível.

2.1.2 Testes físico-químicos

2.1.2.1 Espessura e rugosidade

A espessura dos filmes foi medida utilizando um micrômetro digital (Mitutoya, MDC-25S, Japão), onde 10 pontos diferentes foram escolhidos aleatoriamente em cada amostra.

A rugosidade foi avaliada por meio de rugosímetro digital (Mitutoyo SJ-201, Japão), quando foram realizadas três leituras em cada tipo de filme. O comprimento da amostra (ponto de corte) foi de 4 mm, considerando cinco

intervalos de 0,8 mm para medição, a uma velocidade de 0,5 mm/s, para obtenção dos valores médios de rugosidade (AR). Os padrões adotados foram devidamente programados no equipamento antes da realização das medições e todos os filmes foram previamente desidratados para melhorar o desempenho e a superfície de contato com o rugosímetro.

2.1.2.2 Umidade

A umidade dos filmes foi medida pesando suas massas iniciais antes de submetê-los à secagem em estufa a vácuo (Lab-Line, Squaroid, EUA) a 105 °C por 24h. Os filmes foram cortados em uma área de 2 cm², onde o teor de umidade foi expresso através da razão entre a massa inicial e final do filme, referente à perda de água, após o processo de secagem. O ensaio foi realizado em triplicado para cada formulação.

$$U = \frac{mf - mi}{mf} \times 100$$

Onde: U = Umidade (%), mi = massa inicial da amostra (g), mf = massa úmida em diferentes tempos de amostragem (g).

2.1.2.3 Cor

Os aspectos de coloração foram observados para verificar quantitativamente a influência da incorporação da lectina no aspecto visual dos filmes, característica relevante do ponto de vista de atratividade para potenciais usuários. A análise foi realizada em triplicata com auxílio de colorímetro portátil (VITA Easy Shade IV®, EUA) que adota o padrão CIELAB.

Neste sistema, o brilho e a cor são determinados pelos parâmetros *L*, *a* e *b*. O parâmetro “*L*” varia de 0 (preto) a 100 (branco), o parâmetro “*a*” varia de – 60 (verde) a + 60 (vermelho) e o parâmetro “*b*” varia de – 60 (azul) a + 60 (amarelo). A obtenção desses parâmetros permite calcular a tonalidade métrica (Hue), que indica a cor do material; o croma métrico (Cr), relacionado à intensidade da cor, numa escala de 0 a 16; e a diferença de cor em relação a um padrão (ΔE), que foi definido como o hidrogel contendo apenas alginato e glicerol. Os cálculos foram realizados conforme as seguintes equações:

- Matiz = $\arctan(b/a)$ • Cr = $\sqrt{(a^2 + b^2)}$ • $\Delta E = \sqrt{(\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2)}$.

2.1.2.4 pH dos filmes

Os filmes (1 cm²) incharam durante 2 h numa placa de ágar a 2% (p/v). O pH da superfície dos filmes foi medido colocando a ponta do eletrodo próxima à superfície do filme e esperando que ela se equilibrasse por 1 min (BAZÁN et al., 2023).

2.2.2.5 Hemocompatibilidade

Para avaliar se os filmes de alginato poderiam apresentar algum tipo de comportamento hemolítico, uma solução de sangue a 5% foi preparada e igualmente distribuída em cinco tubos de ensaio. Onde o tubo 1 continha o controle hemolítico, 2: controle negativo, 3: controle apenas com goma guar, 4: filme com cMoL 100 µg/mL e 5: filme com cMoL 200 µg/mL (DE MACEDO et al., 2022).

Todo o processo foi realizado em triplicata. Após 3 h, os sobrenadantes foram obtidos e suas absorbâncias foram registradas em um espectrofotômetro digital (Kasuaki, Japão), com leitura de comprimento de onda em 540 nm, usando a fórmula:

$$\text{Hemólise relativa (\%)} = \frac{\text{amostra DO} - \text{DO}_{\text{neg}}}{\text{DO}_{\text{pos}} - \text{DO}_{\text{neg}}} \times 100$$

As amostras foram classificadas como: Parcialmente hemolíticas: 5% > hemólise relativa ≥ 2%; efetivamente hemolíticas: hemólise relativa ≥ 5%.

2.1.2.6 Inchaço

Os filmes (2 cm de diâmetro) foram colocados em estufas a 37 °C. Após 2 dias, as amostras foram imersas em 30 mL de tampão fosfato salino (pH 6,8) e exsudato artificial (pH 6,8) a 37 °C. As amostras foram pesadas em intervalos de 15 segundos (MOHAMED; HAIDER; ALI, 2011). O grau de inchamento (%) foi determinado segundo a equação:

$$U = \frac{mf - mi}{mf} \times 100$$

Onde: I = inchaço (%), m_i = massa inicial da amostra (g), m_f = massa úmida em diferentes tempos de amostragem (g).

2.1.2.7 Morfologia da superfície do filme

Os filmes bioadesivos foram previamente mantidos em dessecador com sílica por 24 horas. As amostras foram fixadas em stubs metálicos com fita dupla-face de carbono e as superfícies analisadas em Microscópio Eletrônico de Varredura (SEM TM3030, Hitachi, Japão) com operação de elétrons retroespalhados e aceleração de tensão de 15 KV. Imagens de ampliação de 500x foram obtidas da superfície superior dos filmes.

2.2 Propriedades mecânicas

As propriedades de tração foram determinadas utilizando uma Máquina Universal de Testes (Instron 3342, Massachusetts, EUA). Os filmes foram cortados nas dimensões fornecidas de 1 mm x 30 mm x 15 mm, e a deformação de 100 N/mm² foi aplicada para analisar o alongamento percentual, a resistência à tração, o pico de carga e o módulo de Young. A resistência de união foi medida usando uma taxa de carregamento de 4 mm/min. Para isso, a amostra foi acoplada ao extensômetro e à célula de carga para que o alongamento e a carga de teste pudessem ser registrados com precisão. A equação dada calculou o alongamento (%).

$$\text{Taxa de alongamento (\%)} = \frac{L}{L_0} \times 100$$

Onde: “L” foi o comprimento máximo antes da ruptura enquanto “L₀” foi o comprimento original da amostra.

O módulo de Young foi calculado como:

$$\text{Módulo de Young} = \frac{\text{Estresse}}{\text{Variedade}}$$

2.2 Ensaio de citotoxicidade

A avaliação citotóxica dos filmes à base de galactomanana foi realizada pelo ensaio de MTT, baseado na conversão do sal brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT) em corante formazan colorido. Células epiteliais renais (Vero CCL81) foram utilizados como modelos. Primeiramente, as soluções filmogênicas foram preparadas em condições estéreis e 100 µL de cada amostra foram colocados em placas de 96 poços. Em seguida, as soluções filmogênicas formadas receberam uma suspensão de células VERO (10^5 células/mL) em meio RPMI e as placas foram incubadas a 37 °C e 5% de CO₂. Após o tempo necessário (24 - 48 h), o meio foi removido, sendo adicionado meio RPMI fresco contendo 5 mg/mL de solução de MTT e a amostra foi incubada por 3 h. Subsequentemente, o meio foi removido e o produto formazan intracelular foi dissolvido em DMSO. A densidade ótica (DO) foi medida a 492 nm. A viabilidade celular foi expressa como % de células viáveis em comparação com o controle (células sem exposição ao bioadesivo).

2.3 Análise Estatística

Os resultados foram expressos como média $\pm$ desvio padrão da média. As porcentagens de inibição foram calculadas como a média das inibições obtidas para cada experimento individual. Os gráficos e a avaliação estatística dos resultados foram realizados por meio de análise de variância (ANOVA) no programa Graphpad Prism 5.0, seguida pelo teste de Boferroni. Adotou-se o nível de significância menor a 0.05.

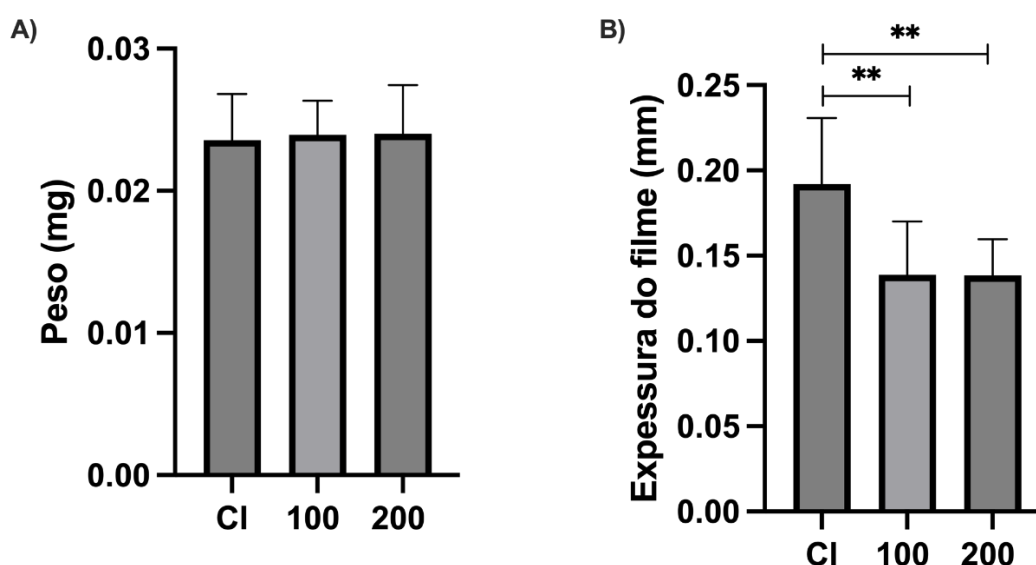
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização de filme a base de galactomanana

3.1.1 Peso e espessura dos filmes

Quando analisados os valores dos pesos pode-se observar que a incorporação da lectina ao filme não causou um aumento significativo no peso dos filmes (Figura 1A). Os valores dos pesos foram de $0,023 \pm 0,01$ mg para o controle, $0,023 \pm 0,01$ mg para o filme com cMoL $100 \mu\text{g/mL}$ e $0,024 \pm 0,01$ mg para o filme com cMoL $200 \mu\text{g/mL}$, não sendo detectada diferença estatística entre os grupos.

Figura 1. Avaliação de peso e espessura dos filmes a base de galactomanana. A) Peso do filme em miligrama (mg); B) espessura dos filmes em milímetros (mm); onde CI: Controle, filme sem incorporação de cMoL; 100: filme incorporado com $100 \mu\text{g/mL}$ de cMoL; 200: filme incorporado com $200 \mu\text{g/mL}$ de cMoL.



Os valores de espessura do filme (Figura 1B) foram expressos em milímetros (mm), onde o filme sem a incorporação da lectina (controle) apresentou uma maior espessura em relação aos filmes contendo cMoL. O controle apresentou a espessura de $0,19 \pm 0,03$ mm, enquanto os filmes com 100 e $200 \mu\text{g/mL}$ de cMoL apresentaram espessura de $0,13 \pm 0,03$ mm e $0,13 \pm 0,02$, respectivamente (Figura 1B). A espessura dos filmes com lectina foi estatisticamente diferente daquela do filme controle.

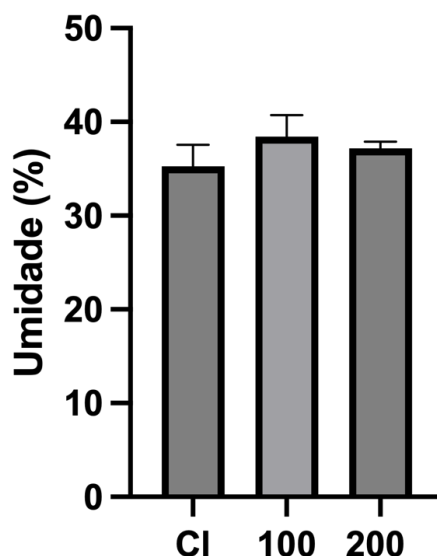
Consoante com o tipo de polímero usado, filmes delgados ou grossos podem ser produzidos. Estes materiais podem apresentar diferentes graus de absorção de exsudatos, transparência ou opacidade, capacidade adesiva ou não adesiva e propriedades semipermeáveis ou permeáveis (COSTA et al., 2020). Um parâmetro importante a ser considerado para o sucesso do uso de filme feito com polímeros na preparação de curativos bioativos é como ele se comporta na presença de exsudatos, pois isso determinará o sucesso da aderência do curativo, bem como o tempo de residência do material no local de aplicação, reepitelização, resistência mecânica e a liberação do medicamento nele contido (JAYAKUMAR et al., 2011).

Segundo a lei de Fick, permeabilidade de um filme é inversamente proporcional a espessura, entretanto, vários fatores analisados levam a desvios nessa lei, como a porosidade da camada estudada, a espessura do filme, a orientação das cadeias poliméricas e a hidrofobicidade, além também do tipo de teste que está sendo aplicado naquele filme (HASATSRI et al., 2018b).

3.1.2 Umidade

Os parâmetros de umidade dos filmes mostraram uma liberação de água, onde foram relacionados o peso inicial do filme e o peso final com a perda de água após a secagem. Os resultados mostraram que em relação a umidade, todos os filmes produzidos não diferiram estatisticamente tendo uma perda média de 35% da porcentagem final quando comparado ao peso inicial (Figura 2). O filme controle teve uma diminuição de $35,2 \pm 2,27 \%$, enquanto os filmes com 100 $\mu\text{g/mL}$ e 200 $\mu\text{g/mL}$ de cMoL diminuíram de $38,4 \pm 2,30\%$ e $37,1 \pm 0,71\%$, respectivamente.

Figura 2. Avaliação da porcentagem de perda de umidade dos filmes a base de galactomanana submetidos a temperatura corporal. CI: Controle, filme sem cMoL; 100: filme incorporado com 100 $\mu\text{g/mL}$ de cMoL; 200: filme incorporado com 200 $\mu\text{g/mL}$ de cMoL.



Muitos estudos demonstram que o ambiente úmido em uma lesão tem vários benefícios e que a manutenção dessa umidade resulta em uma qualidade de cura mais rápida e melhor, que a manutenção desse local úmido ajuda nas mais variadas funções celulares naquela área afetada, promovendo assim desde a comunicação entre as células epiteliais, até mesmo em uma melhor síntese de colágeno no processo de cicatrização (NUUTILA; ERIKSSON, 2021). Os dados mostram que os filmes desenvolvidos apresentam características promissoras para o tratamento de lesões, pois mesmo após secagem ainda mantiveram cerca de 70% de sua umidade.

Grolman et al. (2019) mostraram que em lesões feitas em suínos a manutenção da umidade com o uso de um hidrogel de agarose promoveu melhores resultados no processo de cicatrização, reduzindo a necrose do tecido afetado quando comparado a um controle em que a umidade era inferior. Além disso, um ambiente controlado da ferida úmida pode permitir a entrega mais precisa de tratamentos tópicos, como antimicrobianos, analgésicos, fatores de crescimento e outras moléculas bioativas para a ferida (NUUTILA et al., 2019).

3.1.3 Propriedade mecânicas do filme

Um curativo ideal para feridas deve possuir uma boa biocompatibilidade, proteger o leito da ferida, manter a umidade/hidratação da ferida, permitir com

que haja a troca de gases com o meio ambiente, remover o excesso de exsudato e proteger fisicamente contra microrganismos. Outra característica também de suma importância é ter propriedades mecânicas específicas, como flexibilidade e boa resistência (COSTA et al., 2020).

Além disso, os filmes para tratamento de feridas não devem apenas ser duráveis para suportar estresses físicos, mas também devem possuir uma elasticidade para facilitar a aplicação (KIM et al., 2015). A tabela 1 mostra que os filmes apresentaram resultados bem semelhantes quanto as propriedades mecânicas (resistência à tração, porcentagem da razão de alongamento, pico de carga, módulo de Young). A adição da lectina não alterou nenhuma das propriedades desde que não foi observado diferença estatística entre as propriedades mecânicas dos filmes.

Tabela 1. Análise das propriedades mecânicas de diferentes filmes à base de galactomanana.

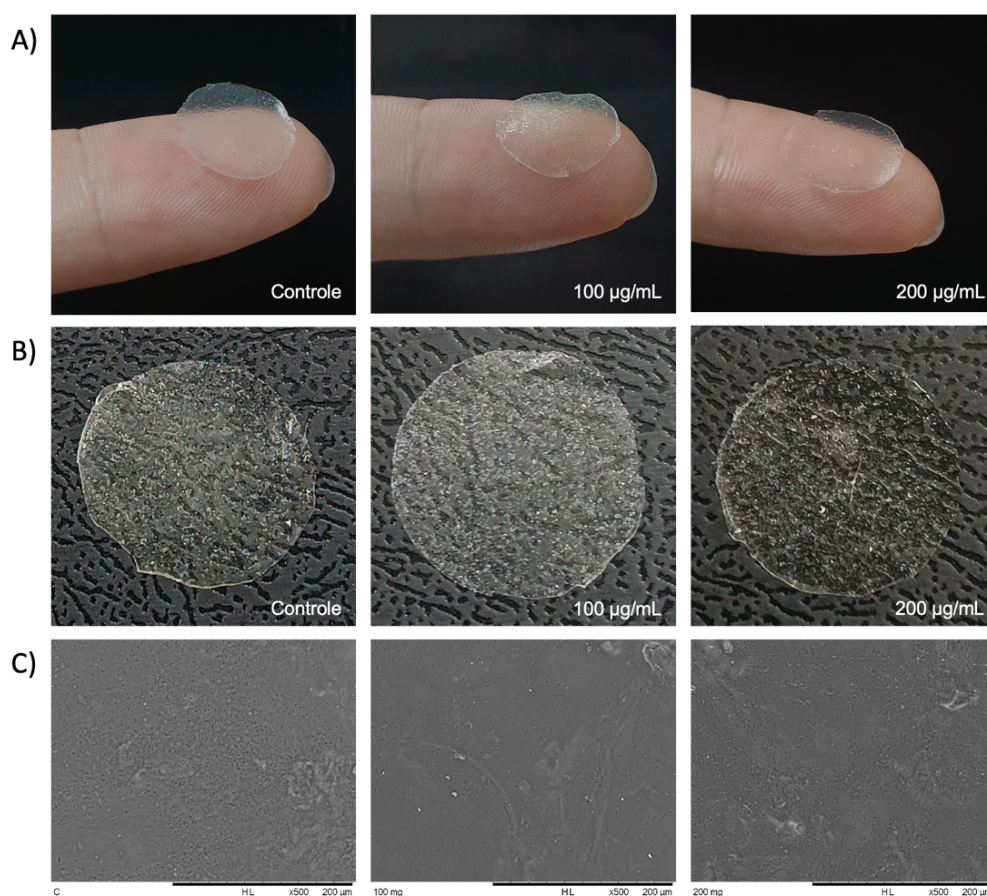
Amostra	Taxa de alongamento (%)	Carga de Pico (N)	Resistência à tração (Mpa)	Módulo de Young (Mpa)
Controle	150,3 ± 12,1	1,3 ± 0,20	0,8 ± 0,13	1,7 ± 0,48
cMoL 100 µg/mL	162,9 ± 9,7	1,8 ± 0,32	1,2 ± 0,21	1,9 ± 0,58
cMoL 200 µg/mL	155,6 ± 18,5	1,3 ± 0,34	0,9 ± 0,23	1,6 ± 0,29

A aplicabilidade de polímeros naturais em curativos apresenta muitas propriedades desejáveis, como biocompatibilidade, biodegradabilidade, fácil reabsorção e capacidade de curar o tecido lesado, mas, em contrapartida são matérias que podem ser facilmente contaminados por microrganismos. Já os polímeros sintéticos geralmente trazem melhores propriedades mecânicas do que os naturais, mas trazem com eles alguns problemas como sua adesão, absorção e permeabilidade baixas. Combinações de compostos sintéticos e naturais foram projetadas para melhorar as propriedades mecânicas e estender o tempo de degradação, mantendo uma melhor estabilidade do produto (GASPAR-PINTILIESCU; STANCIUC; CRACIUNESCU, 2019).

3.1.4 Microscopia de varredura eletrônica (MEV)

A micromorfologia básica foi bem semelhante nos três filmes avaliados, com aspecto levemente granular e rugoso. Os filmes contendo a lectina nas concentrações de 100 e 200 $\mu\text{g/mL}$ apresentam superfícies similares àquela sem a proteína. Estruturas semelhantes aos minerais cristalinos foram observadas em todos os filmes, provavelmente devido aos danos induzidos pelo aquecimento durante a análise MEV. Corroborando assim com as análises macroscópicas onde os três filmes mantiveram o padrão morfológico.

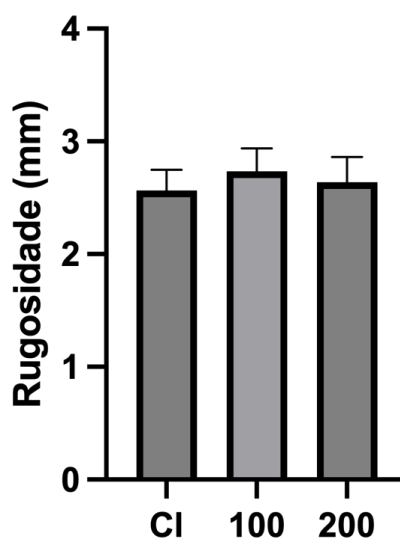
Figura 3. Análise geral de filmes bioadesivos à base de goma de guar, sem a incorporação de cMoL (controle) ou incorporados com 100 e 200 $\mu\text{g/mL}$ da lectina. A e b) Aspectos macroscópicos; c) Micromorfologia de superfície (Barra de escala: 200 μm ; ampliação de 500x).



3.1.5 Rugosidade

Quanto à rugosidade (Figura 4), o filme controle e aqueles incorporados com cMoL na concentração de 100 e 200 $\mu\text{g/mL}$, apresentaram valores médios de $2,5 \pm 0,1$ mm, $2,7 \pm 0,2$ mm e $2,6 \pm 0,2$ mm respectivamente. Os valores de rugosidade dos filmes não foram estatisticamente diferentes ($p < 0,05$).

Figura 4. Análise da rugosidade de diferentes filmes à base de galactomanana. CI: Controle, filme sem cMoL; 100: filme incorporado com 100 $\mu\text{g/mL}$ de cMoL; 200: filme incorporado com 200 $\mu\text{g/mL}$ de cMoL.



3.1.6 Cor

Quanto a luminosidade (L), não houveram diferenças relevantes ($p < 0.0001$) entre os grupos analisados. A tabela 2 mostra que os filmes apresentaram valores de $84,5 \pm 2,2$ (controle), $84,2 \pm 1,0$ (cMoL 100 $\mu\text{g/mL}$) e $84,7 \pm 1,0$ (cMoL 200 $\mu\text{g/mL}$) quanto a equivalência de luz. Este parâmetro demonstra que os filmes com a lectina não se apresentam mais luminosos e mais claros que o grupo controle.

Tabela 2. Análise de parâmetros de coloração de diferentes filmes à base de galactomanana. L: luminosidade; *aeb*: índices de cores; Matiz: matiz métrica; Croma: croma métrico; ΔE : diferença de cor em relação a um padrão

(Galactomanana). Controle: Filme à base de galactomanana; 100 µg/mL: Filme à base de galactomanana incorporado com cMoL 100 µg/mL; 200 µg/mL: Filme à base de galactomanana incorporado com cMoL 200 µg/mL. Em cada coluna, diferentes letras sobrescritas (^{a,b}) indicam diferenças estatísticas significativas ($p < 0,05$).

Amostra	<i>L</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	HuE	Croma	ΔE
Controle	84,5 ± 2,2	-1,5 ± 0,2 ^a	10,5 ± 1,4	-1,4 ± 0,01 ^a	10,6 ± 1,4	-
100 µg/mL	84,2 ± 1,0	-0,6 ± 0,1 ^b	9,0 ± 1,0	-1,4 ± 0,02 ^a	9,0 ± 1,0	2,2 ± 0,6
200 µg/mL	84,7 ± 1,0	-1,9 ± 0,1 ^a	11,2 ± 1,7	-1,3 ± 0,01 ^b	11,1 ± 1,7	1,7 ± 0,9

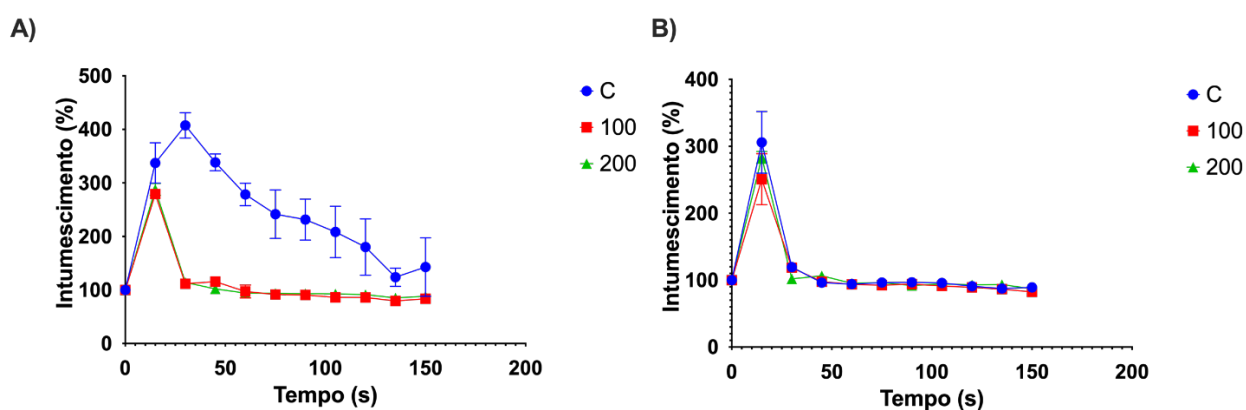
Quanto aos índices de cor foram detectadas diferenças estatísticas ($p > 0,05$) entre os grupos quando comparados ao controle, onde maiores valores de *a* e *b* foram nos filmes com a concentração de 100 µg/mL, apresentando filmes com uma tendência menos amareladas e mais cristalinas. Mas tais índices não foram capazes de desencadear mudanças significativas no valor de tonalidade métrica (Hue), indicando que os filmes tratados com cMoL não têm uma tendência para tonalidade maior, em comparação com os filmes somente com galactomama. Em adição, a Croma métrica (Cr), parâmetro relacionado a intensidade de cor, indicou que não houve diferença significativa entre o grupo controle com àquele incorporado com a lectina cMoL ($p < 0,0001$) (Tabela 2). A partir do ΔE , foi possível detectar a diferença de cor entre os grupos, onde grupo controle foi atribuído como padrão de referência (Tabela 2).

3.1.7 Intumescimento

A análise de intumescimento dos filmes, mostra que a presença da lectina na formulação não alterou significativamente a capacidade de absorção dos filmes ($p > 0,05$), tanto em meio salino (Figura 5, A) quando em contato com o

exsudato simulado (Figura 5, B). As amostras apresentaram pico de absorção nos primeiros 30 s, mas nos intervalos de tempo posteriores houve perda gradativa de conteúdo aquoso, devido à degeneração da matriz estrutural do filme (redução de massa). Os filmes foram quase totalmente solubilizados em todos os meios testados a partir de 150 segundos.

Figura 5. Avaliação do intumescimento de diferentes filmes à base de galactomanana. **A)** Absorção em solução salina; **B)** exsudato artificial; com uma variação de tempo de 15 segundos. C: Controle, filme sem cMoL; 100: filme incorporado com 100 µg/mL de cMoL; 200: filme incorporado com 200 µg/mL de cMoL.

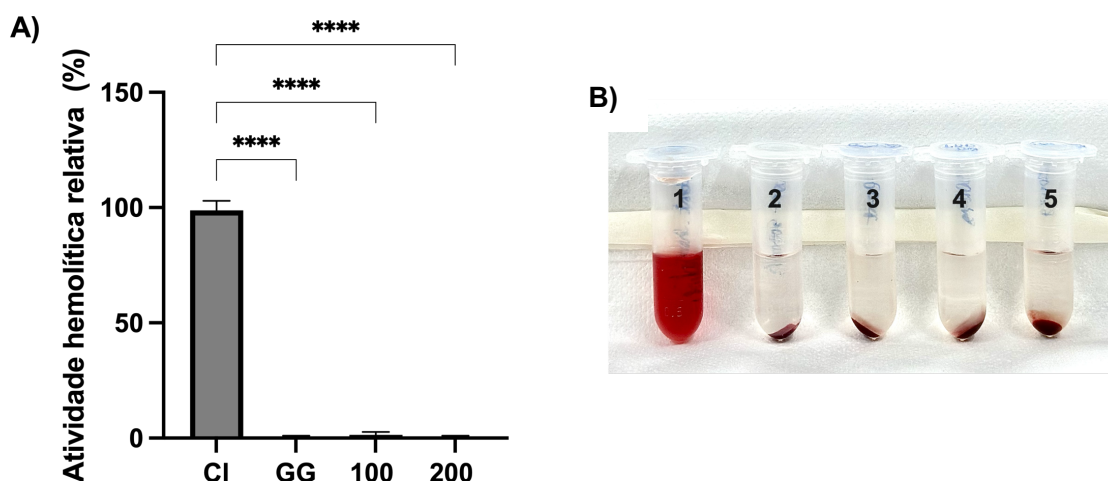


3.1.8 Hemocompatibilidade e pH

A figura 6 A mostra a atividade hemolítica dos filmes desenvolvidos. Os filmes sem cMoL e com cMoL na concentração de 200 µg/mL apresentaram atividade hemolítica abaixo de 1%. Por outro lado, o filme contendo cMoL na concentração de 100 µg/mL apresentou porcentagem de hemólise de $1,44 \pm 1,30\%$, valor ainda considerado seguro para novas substâncias. Os grupos onde estava presente a goma de guar e o grupo de 100 µg/mL tiveram diferença estatística significativa quando comparados ao controle de hemólise.

Figura 6. Atividade hemolítica relativa de diferentes concentrações da lectina coagulante de sementes de *Moringa oleífera* (cMoL). **A)** Atividade hemolítica

relativa de diferentes concentrações de cMoL. CI: Controle; GG: filme apenas com goma guar; 100: filme com cMoL 100 µg/mL; 200: filme com cMoL 200 µg/mL. **B)** Imagem representativa do ensaio hemolítico. 1: Controle hemolítico, 2: controle negativo, 3: filme apenas com goma guar, 4: filme com cMoL 100 µg/mL e 5: filme com cMoL 200 µg/mL.



Um material é considerado não hemolítico quando seus graus de hemólise relativa são de até 2%, enquanto aqueles com taxas entre 2% e 5% podem causar hemólise parcial; e compostos com um índice acima de 5% são efetivamente hemolíticos (KENAWY et al., 2019). Nossos dados revelam que os filmes desenvolvidos são não hemolíticos ou promoveram hemólise relativa. Em relação ao pH dos filmes, todos se mantiveram em uma faixa de 6,2 e 6,4.

O problema da hemólise de algumas substâncias se dá justamente por toda a fisiologia envolvida, pois ela pode influenciar diretamente no processo de cicatrização. Para a vascularização ocorrer eficazmente é necessário a presença de óxido nítrico ativo (NO), e na hemólise a hemoglobina livre liberada dos glóbulos vermelhos causa a inativação do NO, levando a um atraso na cicatrização; além disso, a hemoglobina livre pode perturbar a proliferação de fibroblastos e a remodelação do colágeno (ZARE-GACHI et al., 2020).

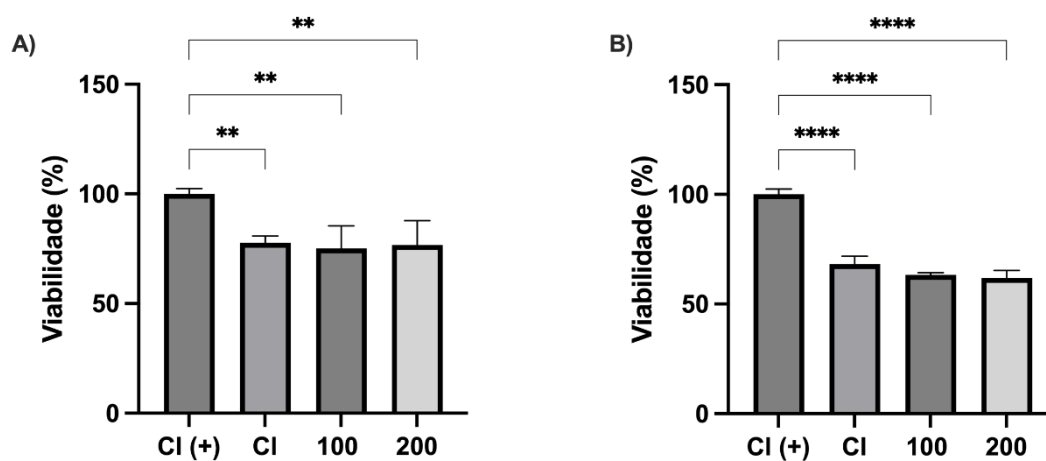
Corroborando com nosso estudo, teste de hematocompatibilidade de um filme bioadesivo a base de quitosana também apresentou um índice de hemólise abaixo de 2%, para todas as amostras testadas, se mostrando seguro para sua

aplicação, por atenderem os requisitos de materiais não hemolíticos (ANJELISA ZAITUN HASIBUAN et al., 2021). Estudo com polímeros usados em curativos bioativos, tais como celulose bacteriana (BC) e os conjugados BC/colágeno e BC/colágeno/quitosana determinou que todas as amostras promoveram hemólise abaixo de 2%, valor de hemólise considerado hemocompatível (PASARIBU et al., 2023).

3.1.9 Citotoxicidade dos filmes a base de galactomanana

Como visto na Figura 7, o contato dos filmes de galactomanana com as células Vero CCL-85 gerou um grau de citotoxicidade, apresentando uma redução de viabilidade média de 25% a viabilidade celular no tempo de 24 horas. Os valores de redução de viabilidade após 24 h de contato (Figura 7A) foram $22,4 \pm 3,1\%$ para o filme sem lectina (controle), $24,8 \pm 10,1\%$ para o filme com cMoL 100 $\mu\text{g/mL}$ e $23,4 \pm 11,1\%$ para o filme com cMoL 200 $\mu\text{g/mL}$. Os valores demonstram nível de toxicidade baixa. Redução maior de viabilidade foi detectada após 48 h de contato (Figura 7B), desde que os valores encontrados para o controle, filme com cMoL 100 $\mu\text{g/mL}$ e filme com cMoL 200 $\mu\text{g/mL}$ foram $31,9 \pm 3,7\%$, $36,7 \pm 0,9\%$, $38,1 \pm 4,0\%$, respectivamente.

Figura 7. Viabilidade de células da linhagem Vero - CCL 85 incubadas em filmes contendo diferentes concentrações de cMoL. As colunas representam a média $\pm$ DP (-) Controle negativo; (+) Controle positivo de necrose (Dimetilsulfóxido 10%); cMoL - lectina coagulante de sementes de *M. oleífera*. **A)** Tempo de 24 horas; **B)** tempo de 48 horas; onde as colunas representam a média $\pm$ DP (n = 4). Cl (+) Controle positivo; Cl: Controle, filme apenas com a goma de guar, 100: filme incorporado com cMoL 100 $\mu\text{g/mL}$; 200: filme incorporado com cMoL 200 $\mu\text{g/mL}$.



Com base em testes feitos a partir da formação de bioadesivos com as lectinas ConBr (de *Canavalia brasiliensis* Mart.) e MaL (de *Machaerium acutifolium* Vogel.), foi possível observar que os filmes com as lectinas não foram tóxicos a macrófagos no tempo de 24 horas (BAZÁN et al., 2023), corroborando com os resultados apresentados para os filmes incorporados com cMoL.

4 CONCLUSÃO

Os filmes de galactomanana puderam integrar as lectinas em suas matrizes sem alterações significativas em todas as características testadas, sejam elas físico-químicas ou mecânicas. Os filmes contendo cMoL foram hemocompatíveis e não foram capazes de gerar toxicidade acentuada em células Vero. Em resumo, os filmes à base de galactomanana incorporados com cMoL representam protótipos de curativos interessantes para a administração dérmica de lectinas ou outros compostos visando otimizar o processo de cura de uma lesão.

REFERÊNCIAS

ANJELISA ZAITUN HASIBUAN, P. et al. Antimicrobial and antihemolytic properties of a CNF/AgNP-chitosan film: A potential wound dressing material. **Heliyon**, p. e08197, 2017.

ARAÚJO, Larissa Cardoso Corrêa et al. Evaluation of cytotoxic and anti-inflammatory activities of extracts and lectins from *Moringa oleifera* seeds. **PloS one**, v. 8, n. 12, p. e81973, 2013.

BAZÁN, José Manuel Noguera et al. Development and characterization of alginate-derived bioadhesive films incorporated with anti-infective lectins for application in the treatment of oral candidiasis. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, v. 90, p. 105114, 2023.

BORENA, Bizunesh M. et al. Regenerative skin wound healing in mammals: state-of-the-art on growth factor and stem cell based treatments. **Cellular Physiology and Biochemistry**, v. 36, n. 1, p. 1-23, 2015.

COSTA, N. N. et al. Polymeric films containing pomegranate peel extract based on PVA/starch/PAA blends for use as wound dressing: In vitro analysis and physicochemical evaluation. **Materials Science and Engineering: C**, v. 109, p. 110643, 1 abr. 2020.

DA SILVA, Elda Nunes et al. Aspectos gerais das lectinas vegetais. **Latin American Journal of Development**, v. 4, n. 6, p. 1955-1964, 2022.

DE MACEDO, Gustavo Henrique Rodrigues Vale et al. Development and characterization of alginate-derived crosslinked hydrogel membranes incorporated with ConA and gentamicin for wound dressing applications. **Biochemical Engineering Journal**, v. 187, p. 108664, 2022.

FIRLAR, Ilayda et al. Functional hydrogels for treatment of chronic wounds. **Gels**, v. 8, n. 2, p. 127, 2022.

GASPAR-PINTILIESCU, A.; STANCIUC, A. M.; CRACIUNESCU, O. Natural composite dressings based on collagen, gelatin and plant bioactive compounds for wound healing: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 138, p. 854–865, 1 out. 2019.

GROLMAN, J. M. et al. Antibiotic-Containing Agarose Hydrogel for Wound and Burn Care. **Journal of Burn Care & Research**, v. 40, n. 6, p. 900–906, 16 out. 2019.

HASATSRI, S. et al. Comparison of the Morphological and Physical Properties of Different Absorbent Wound Dressings. **Dermatology Research and Practice**, v. 2018, 2018a.

JAYAKUMAR, R. et al. Biomaterials based on chitin and chitosan in wound dressing applications. **Biotechnology Advances**, v. 29, n. 3, p. 322–337, 1 maio 2011.

KENAWY, E. et al. Fabrication of biodegradable gelatin/chitosan/cinnamaldehyde crosslinked membranes for antibacterial wound dressing applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 139, p. 440–448, 15 out. 2019.

KIM, J. O. et al. Nitric oxide-releasing chitosan film for enhanced antibacterial and in vivo wound-healing efficacy. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 79, p. 217–225, 1 ago. 2015.

MEULENEIRE, Frans. A vapour-permeable film dressing used on superficial wounds. **British Journal of Nursing**, v. 23, n. Sup15, p. S36-S43, 2014.

MOHAMED, M. I.; HAIDER, M.; ALI, M. A. M. Buccal Mucoadhesive Films Containing Antihypertensive Drug: In vitro/in vivo Evaluation. **J. Chem. Pharm. Res**, v. 3, n. 6, p. 665–686, 2011.

NUUTILA, K. et al. Immediate Treatment of Burn Wounds with High Concentrations of Topical Antibiotics in an Alginate Hydrogel Using a Platform Wound Device. <https://home.liebertpub.com/wound>, v. 9, n. 2, p. 48–60, 18 dez. 2019.

NUUTILA, K.; ERIKSSON, E. Moist Wound Healing with Commonly Available Dressings. **Advances in Wound Care**, v. 10, n. 12, p. 685–698, 1 dez. 2021.

OLSSON, Maja et al. The humanistic and economic burden of chronic wounds: a systematic review. **Wound repair and regeneration**, 27(1), 114-125, 2019.

PASARIBU, K. M. et al. Bioactive bacterial cellulose wound dressings for burns with collagen in-situ and chitosan ex-situ impregnation. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 230, p. 123118, 1 mar. 2023.

RIBEIRO, Diogo Marcelo Lima et al. Polysaccharide-based formulations for healing of skin-related wound infections: lessons from animal models and clinical trials. **Biomolecules**, v. 10, n. 1, p. 63, 2019.

TOTTOLI, Erika Maria et al. Skin wound healing process and new emerging technologies for skin wound care and regeneration. **Pharmaceutics**, v. 12, n. 8, p. 735, 2020.

ZARE-GACHI, M. et al. Improving anti-hemolytic, antibacterial and wound healing properties of alginate fibrous wound dressings by exchanging counter-cation for infected full-thickness skin wounds. **Materials Science and Engineering: C**, v. 107, p. 110321, 1 fev. 2020.

5. CONCLUSÃO

Os achados deste estudo destacam o notável potencial anti-infeccioso da lectina cMoL em um modelo de infecção in vivo. A administração profilática e terapêutica dessa molécula demonstrou uma eficácia significativa na prevenção da infecção por *Staphylococcus aureus*, prolongando a sobrevivência dos indivíduos em um dia. Notavelmente, a cMoL não apresentou efeitos tóxicos em células epiteliais, reforçando sua segurança para aplicações biomédicas.

Além disso, a administração tópica da lectina na dose de 200 mg/kg não induziu sinais de toxicidade nos órgãos analisados, preservando a integridade estrutural da pele. Esses resultados consolidam a cMoL como uma promissora candidata para o desenvolvimento de novos fitofármacos de uso tópico.

Outro avanço relevante deste trabalho foi a incorporação bem-sucedida das lectinas em filmes de galactomanana, sem comprometer suas propriedades físico-químicas e mecânicas. Essas formulações inovadoras surgem como potenciais curativos biomateriais, abrindo caminho para novas estratégias terapêuticas no tratamento de infecções e na regeneração tecidual. Assim, os resultados obtidos reforçam a viabilidade do uso de lectinas na biotecnologia aplicada à saúde, impulsionando novas possibilidades para a medicina regenerativa e o controle de infecções.

SÚMULA CURRICULAR

Trabalhos apresentados:

SILVA, M. A.; SILVA, L. S.; NOVA, B. G. V.; CUTRIM, B. S.; VIEIRA, S. L.; **CASTELO BRANCO, S. J. S**; ZAGMIGNAN, A.; SILVA, L. C. N.; EVANGELISTA, G. D.. EFEITO DO SUCO DE *Eugenia uniflora* L. FERMENTADO COM *Limosilactobacillus fermentum* ATCC 23271 EM MODELOS DE ENDOTOXEMIA EXPERIMENTAL. 2021. (Apresentação de Trabalho/Simpósio).

SILVA, L. S.; SILVA, I. S. S.; CHAGAS, V. L.; **CASTELO BRANCO, S. J. S**; NOVA, B. G. V.; LIMA, J. V. S.; BATISTA, K. L. R.; TEIXEIRA, C. S.; SILVA, L. C. N.. Avaliação da atividade antimicrobiana da lectina isolada de sementes de *Canavalia brasiliensis* (ConBr) em um modelo de feridas cutâneas infectadas. 2021. (Apresentação de Trabalho/Simpósio).

SILVA, C. C.; SILVA, L. S.; CUTRIM, B. S.; VIEIRA, S. L.; **CASTELO BRANCO, S. J. S**; SILVA, M. A.; NOVA, B. G. V.; ARAUJO, J. F.; EVANGELISTA, G. D.; SILVA, L. C. N.; ZAGMIGNAN, A.. EFEITO DO SUCO DE *Eugenia Uniflora* L. FERMENTADO COM *Limosilactobacillus fermentum* ATCC 23271 EM MODELOS DE INFECÇÃO ENTEROAGREGATIVA POR *Escherichia Coli* 042 EM LARVAS DE *TENEbrio MOLITOR*. 2021. (Apresentação de Trabalho/Simpósio).

Banca de trabalho de conclusão de curso:

PAIVA, P. M. G.; BARBOSA, L. L. S. S.; **CASTELO BRANCO, S. J. S**; NOVA, I. C. V.. Participação em banca de Marcelle Kaliane Nunes de Lima. ATIVIDADE HEMAGLUTINANTE, INIBIDORA DE TRIPSINA E ANTIBACTERIANA DE EXTRATOS DE FOLHAS DE *Moringa oleifera*. 2021. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Pernambuco.

Organização de eventos:

III Simpósio de Proteínas Bioativas. 2021.

Patente:

2022 MIRANDA, P. H. O. ; **BRANCO, S. J. S. C** ; CHAGAS, V. L. ; SILVA, R. S. ; OLIVEIRA, W. F. ; RIBEIRO, K. A. ; SILVA, P. M. ; ALVES, J. V. O. ; SILVA, L. C. N. ; VERAS, B. O. ; CORREIA, M T S ; SILVA, M. V. . COMPOSIÇÃO À BASE DO ÓLEO DE LICURI (*Syagrus coronata*) PARA O TRATAMENTO DE FERIDAS. 2022, Brasil. Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: BR10202200382, título: "COMPOSIÇÃO À BASE DO ÓLEO DE LICURI (*Syagrus coronata*) PARA O TRATAMENTO DE FERIDAS", Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial. Depósito: 28/02/2022

Artigos:

2022- NUNES, Marcio Anderson Sousa; SILVA, Lucas Dos Santos; SANTOS, Deivid Martins; CUTRIM, Brenda Da Silva; VIEIRA, Silvamara Leite; Silva, Izadora Souza Soeiro; **CASTELO BRANCO, Simeone Júlio Dos Santos**; Nascimento, Mayara de Santana do; VALE, André Alvares Marques; SANTOS-AZEVEDO, Ana Paula Silva Dos; ZAGMIGNAN, Adrielle ; SOUSA, Joicy Cortez De Sá ; NAPOLEÃO, Thiago Henrique ; PAIVA, Patrícia Maria Guedes; MONTEIRO-NETO, Valério ; Nascimento da Silva, Luís Cláudio . Schinus terebinthifolius Leaf Lectin (StELL) Reduces the Bacterial and Inflammatory Burden of Wounds Infected by *Staphylococcus aureus* Promoting Skin Repair. PHARMACEUTICALS **JCR**, v. 15, p. 1441, 2022.Link: <https://www.mdpi.com/1424-8247/15/11/1441>.

DA SILVA, Abdênego Rodrigues; ALVES, Robson Raion De Vasconcelos ; DA SILVA, Suéllen Pedrosa ; **BRANCO, Simeone Júlio Dos Santos Castelo** ; MARINHO, Amanda De Oliveira ; SOUZA, Talita Giselly Dos Santos ; CHAGAS, Cristiano Aparecido ; PAIVA, Patrícia Maria Guedes ; DE OLIVEIRA, Alisson Macário ; NAPOLEÃO, Thiago Henrique . Acute toxicity and genotoxicity

assessment of PgTeL, a lectin from pomegranate sarcotesta, in mice. SOUTH AFRICAN JOURNAL OF BOTANY **JCR**, v. 147, p. 1, 2022 Link: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0254629922000825?via%3Dihub>.

2023 ZAGMIGNAN, Adrielle ; Mendes, Yasmim Costa ; Mesquita, Gabrielle Pereira ; Santos, Gabrielle Damasceno Costa dos ; SILVA, Lucas Dos Santos ; DE SOUZA SALES, Amanda Caroline ; **CASTELO BRANCO, Simeone Júlio Dos Santos** ; JUNIOR, Alexsander Rodrigues Carvalho ; BAZÁN, José Manuel Noguera ; ALVES, Edinalva Rodrigues ; ALMEIDA, Bárbara Lima De ; SANTOS, Anne Karoline Maiorana ; FIRMO, Wellyson Da Cunha Araújo ; SILVA, Maria Raimunda Chagas ; CANTANHEDE FILHO, Antônio José ; Miranda, Rita de Cássia Mendonça de ; SILVA, Luís Cláudio Nascimento Da . Short-Term Intake of Theobroma grandiflorum Juice Fermented with Lacticaseibacillus rhamnosus ATCC 9595 Amended the Outcome of Endotoxemia Induced by Lipopolysaccharide. Nutrients **JCR**, v. 15, p. 1059, 2023. Link: <https://www.mdpi.com/2072-6643/15/4/1059>.

2024 COSTA DOS SANTOS, Gabrielle Damasceno ; DA SILVA PEREIRA, Carlos Drielson ; DA SILVA, Camila Caetano ; SILVA, Marcos Andrade ; SILVA, Lucas Dos Santos ; DA SILVA CUTRIM, Brenda ; **BRANCO, Simeone Júlio dos Santos Castelo** ; PAIVA, Patrícia Maria Guedes ; CORREIA, Maria Tereza Dos Santos ; MIRANDA, Rita de Cássia Mendonça de ; ZAGMIGNAN, Adrielle ; Nascimento da Silva, Luís Cláudio . Eugenia uniflora (pitanga) juice as a new alternative vehicle for Limosilactobacillus fermentum ATCC 23271: evaluation of antioxidant and anti-infective effects. BRAZILIAN JOURNAL OF MICROBIOLOGY **JCR**, v. 2024, p. 1, 2024 Link: <https://link.springer.com/article/10.1007/s42770-024-01329-7>.

BATISTA, KARLA LILIAN RODRIGUES; SILVA, LUCAS DOS SANTOS; **CASTELO BRANCO, SIMEONE JÚLIO DOS SANTOS**; PAIVA, MIRIA YASMIM MIRANDA; SILVA, IZADORA SOUZA SOEIRO; SOUSA, CARLOS EDUARDO MORAIS DE; SANTOS, JOÃO LUCAS SALES; PAIVA, PATRÍCIA MARIA GUEDES; TEXEIRA, CLAUDENER SOUZA; SILVA, LUÍS

CLÁUDIO NASCIMENTO DA. Avaliação dos efeitos terapêuticos da lectina obtida de sementes de *Canavalia brasiliensis* (ConBr) em lesões cutâneas infectadas por *Staphylococcus aureus*. EVIDÊNCIA - CIÊNCIA E BIOTECNOLOGIA, v. 24, p. e34475, 2024 Link: <https://periodicos.unoesc.edu.br/evidencia/article/view/34475>.

2025 DOS SANTOS SILVA, LUCAS ; **DOS SANTOS CASTELO BRANCO, SIMEONE JÚLIO** ; SILVA, IZADORA SOUZA SOEIRO ; PAIVA, MIRIA YASMIM MIRANDA ; VILA NOVA, BEATRIZ GOMES ; DE MATOS CHAVES LIMA, CARLOS EMANUEL ; DE OLIVEIRA, WESLEY FELIX ; DE PAIVA, FELIPE EDUARDO ALVES ; PAIVA, PATRÍCIA MARIA GUEDES ; DE SOUZA MONTEIRO, ANDREA ; TEIXEIRA, CLAUDENER SOUZA ; CARDOSO, CLÉVER GOMES ; DOS SANTOS CORREIA, MARIA TEREZA ; NASCIMENTO DA SILVA, LUÍS CLÁUDIO . Cratylia mollis lectin reduces inflammatory burden induced by multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* in diabetic wounds. HISTOCHEMISTRY AND CELL BIOLOGY **JCR**, v. 163, p. 1, 2025. Link: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00418-024-02330-9>

Capítulo de Livro

2021 SALES, Amanda Caroline de Souza; SILVA, Ana Lúcia Pontes; FERREIRA, Bruna Sthefanny da Cunha; SANTOS, Gabrielle Damasceno Costa dos; SILVA, Luís Cláudio Nascimento da; SILVA, Lucas Dos Santos; FLOR, Saara Emanuele da Silva ; **BRANCO, Simeone Júlio dos Santos Castelo** ; NASCIMENTO, Victoria Alves do ; ZAGMIGNAN, Adrielle . AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICA DO MIRIM (*Humiria balsamifera* Aubl.). Tripé do Ensino Superior: Ensino, Pesquisa e Extensão. 1ed.: Instituto Produzir, 2021, v., p. 289-298. Link: <https://doi.editoracubo.com.br/10.4322/978-65-995353-2-1.c30>.

Estágio a docência

Estágio 1 - Bioquímica 01

Estagio 2 - Aplicações de Biomoléculas

REFERÊNCIAS

- ABD EL-HACK, M. E. et al. Pharmacological, nutritional and antimicrobial uses of *Moringa oleifera* Lam. leaves in poultry nutrition: an updated knowledge. **Poultry Science**, v. 101, n. 9, p. 102031, 1 set. 2022.
- ADAMUDE, F. A. et al. Identification and characterization of lectin gene isolated from an indigenous *Albizia lebbeck* seeds. **Scientific African**, v. 7, p. e00234, 1 mar. 2020.
- AGRA-NETO, A. C. et al. Effect of *Moringa oleifera* lectins on survival and enzyme activities of *Aedes aegypti* larvae susceptible and resistant to organophosphate. **Parasitology Research**, v. 113, n. 1, p. 175–184, 19 jan. 2014.
- ALI, M. et al. Physico-chemical based mechanistic insight into surfactant modulated sodium Carboxymethylcellulose film for skin tissue regeneration applications. **Journal of Polymer Research**, v. 27, n. 1, p. 1–11, 1 jan. 2020.
- AMAGLO, N. K. et al. Profiling selected phytochemicals and nutrients in different tissues of the multipurpose tree *Moringa oleifera* L., grown in Ghana. **Food Chemistry**, v. 122, n. 4, p. 1047–1054, 15 out. 2010.
- ANSARI, M.; MEFTAHIZADEH, H.; ESLAMI, H. Physical and antibacterial properties of Chitosan-guar-peppermint gel for improving wound healing. **Polymer Bulletin**, v. 80, n. 7, p. 8133–8149, 1 jul. 2023.
- ARAÚJO, L. C. C. et al. Evaluation of Cytotoxic and Anti-Inflammatory Activities of Extracts and Lectins from *Moringa oleifera* Seeds. **PLOS ONE**, v. 8, n. 12, p. e81973, 9 dez. 2013.
- ARMSTRONG, D. G.; BOULTON, A. J. M.; BUS, S. A. Diabetic Foot Ulcers and Their Recurrence. **New England Journal of Medicine**, v. 376, n. 24, p. 2367–2375, 15 jun. 2017.
- AS, S. et al. Atuação da Dermato-funcional em mulheres acometidas por queimaduras em ambiente domestico em tempos de pandemia. **Revista Liberum accessum**, v. 13, n. 1, p. 10–18, 22 nov. 2021.
- ASARE, G. A. et al. Toxicity potentials of the nutraceutical *Moringa oleifera* at supra-supplementation levels. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 139, n. 1, p. 265–272, 6 jan. 2012.
- ASENSI, G. D.; VILLADIEGO, A. M. D.; BERRUEZO, G. R. *Moringa oleifera*: Revisión sobre aplicaciones y usos en alimentos. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición (ALAN)**, v. 67, n. 2, p. 86–97, 2017.

ASHTIKAR, M.; WACKER, M. G. Nanopharmaceuticals for wound healing – Lost in translation? **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 129, p. 194–218, 1 abr. 2018.

ATKIN, L. et al. Implementing TIMERS: The race against hard-to-heal wounds. **Journal of Wound Care**, v. 23, n. 3, p. S1–S52, 5 mar. 2019.

BAHIA BRASIL, S. et al. Biomateriais com aplicação na regeneração óssea – método de análise e perspectivas futuras. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 9, n. 1, p. 37–44, 18 nov. 2010.

BARHOI, D. et al. Aqueous Extract of Moringa oleifera Exhibit Potential Anticancer Activity and can be Used as a Possible Cancer Therapeutic Agent: A Study Involving In Vitro and In Vivo Approach. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 40, n. 1, p. 70–85, 2021.

BARROS, M. C. DE et al. Cytotoxicity and genotoxicity assessment of the extract and lectins from Moringa oleifera Lam. Seeds / Avaliação da citotoxicidade e genotoxicidade do extrato e lectinas das sementes de Moringa oleifera Lam. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 10, p. 94854–94869, 4 out. 2021.

BEZERRA, J. V. DA S. Avaliação do efeito de uma lectina isolada de ovos do gastrópode marinho Aplysia dactylomela na cicatrização de feridas induzidas cirurgicamente em camundongos. 25 jan. 2021.

BIES, C.; LEHR, C. M.; WOODLEY, J. F. Lectin-mediated drug targeting: history and applications. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 56, n. 4, p. 425–435, 3 mar. 2004.

BINDHU, M. R. et al. Green synthesis and characterization of silver nanoparticles from Moringa oleifera flower and assessment of antimicrobial and sensing properties. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 205, p. 111836, 1 abr. 2020.

BONNARDEL, F. et al. Structural Database for Lectins and the UniLectin Web Platform. **Methods in Molecular Biology**, v. 2132, p. 1–14, 2020.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, n. 1–2, p. 248–254, 7 maio 1976.

BREITENBACH, L. C. et al. 2012 Protein Purification Book Affinity Chapter Luana. 2011.

BREITENBACH, L. C.; COELHO, B. Antibacterial Lectins: Action Mechanisms, Defensive Roles, and Biotechnological Potential. 2017.

BREITENBACH, L. C.; COELHO, B. Antimicrobial activity of secondary metabolites and lectins from plants. 2010.

BRILHANTE, R. S. N. et al. Research advances on the multiple uses of Moringa oleifera: A sustainable alternative for socially neglected population. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 10, n. 7, p. 621–630, 1 jul. 2017.

BRITO DE QUEIROZ, B.; FERREIRA TOMAZ, A. EFICÁCIA DO CURATIVO DE QUITOSANA NA CICATRIZAÇÃO: UMA REVISÃO INTEGRATIVA. 2021.

BUTLER, B. J. et al. Composite nature of fresh skin revealed during compression. <https://doi.org/10.1680/bbn.14.00028>, v. 4, n. 2, p. 133–139, 1 set. 2015.

CARVALHO, E. V. M. M. et al. Lectins as mitosis stimulating factors: Briefly reviewed. **Life Sciences**, v. 207, p. 152–157, 15 ago. 2018.

CASTELO BRANCO, S. J. DOS S. Avaliação dos efeitos antibacterianos in vivo da Lectina de Punica granatum (PgTeL) em modelo de ferida infectada por staphylococcus aureus. 9 mar. 2021.

CASTRO, R. R. et al. Structural characteristics are crucial to the benefits of guar gum in experimental osteoarthritis. **Carbohydrate Polymers**, v. 150, p. 392–399, 5 out. 2016.

CHEENPRACHA, S. et al. Potential anti-inflammatory phenolic glycosides from the medicinal plant Moringa oleifera fruits. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 18, n. 17, p. 6598–6602, 1 set. 2010.

CHEN, F. M.; LIU, X. Advancing biomaterials of human origin for tissue engineering. **Progress in Polymer Science**, v. 53, p. 86–168, 1 fev. 2016.

CHEN, H. et al. Principais recursos utilizados na fisioterapia dermatofuncional no reparo tecidual: revisão integrativa. **Rheumatology International**, v. 33, n. 5, p. 1223–1227, 16 dez. 2021.

CHO, S. K. et al. Development of a Model to Predict Healing of Chronic Wounds within 12 Weeks. **Advances in Wound Care**, v. 9, n. 9, p. 516–524, 1 set. 2020.

COELHO, J. S. et al. Effect of Moringa oleifera lectin on development and mortality of Aedes aegypti larvae. **Chemosphere**, v. 77, n. 7, p. 934–938, 1 nov. 2009.

DALEI, G.; DAS, S. Carboxymethyl guar gum: A review of synthesis, properties and versatile applications. **European Polymer Journal**, v. 176, p. 111433, 5 ago. 2022.

DAS, N. et al. Quercetin alleviates inflammation after short-term treatment in high-fat-fed mice. **Food & Function**, v. 4, n. 6, p. 889–898, 28 maio 2013.

DE CARVALHO, S. A. Purificação e caracterização de lectinas em sementes de Apuleia leio carpa (VOGEL) J.F. Macbride (FABACEAE): Potencial Antimicrobiano. 28 fev. 2013.

DE ANDRADE LUZ, L. et al. Cytotoxicity of the coagulant *Moringa oleifera* lectin (cMoL) to B16-F10 melanoma cells. **Toxicology in Vitro**, v. 44, p. 94–99, 1 out. 2017.

DE OLIVEIRA, A. C. et al. Quality of life of people with chronic wounds. **Acta Paulista de Enfermagem**, v. 32, n. 2, p. 194–201, 10 jun. 2019.

DE OLIVEIRA, B. F. et al. Electrochemical Characterization Using Biosensors with the Coagulant *Moringa oleifera* Seed Lectin (cMoL). **Biosensors** **2023**, Vol. 13, Page 655, v. 13, n. 6, p. 655, 15 jun. 2023.

DE OLIVEIRA, C. F. R. et al. Evaluation of seed coagulant *Moringa oleifera* lectin (cMoL) as a bioinsecticidal tool with potential for the control of insects. **Process Biochemistry**, v. 46, n. 2, p. 498–504, 1 fev. 2011.

DE SOUZA, Zion Nascimento et al. Lectinas antibacterianas e antibiofilmes de plantas-uma revisão. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 15, p. e70101522595-e70101522595, 2021.

DELAVERY, B. M. et al. Macrophages in skin injury and repair. **Immunobiology**, v. 216, n. 7, p. 753–762, 1 jul. 2011.

DOLEJAL, G.; PPGBOT, Z.; ALEGRE, P. Lectina dos rizomas de *Arundo Donax* L.: purificação, caracterização, propriedades, imuno-histoquímica e separação das isoformas. 2007.

DONG, R.; GUO, B. Smart wound dressings for wound healing. **Nano Today**, v. 41, p. 101290, 1 dez. 2021.

FAHEY, J. W. *Moringa oleifera*: A Review of the Medical Evidence for Its Nutritional, Therapeutic, and Prophylactic Properties. Part 1. [s.d.].

FAHMY, H. M.; ALY, A. A.; ABOU-OKEIL, A. A non-woven fabric wound dressing containing layer – by – layer deposited hyaluronic acid and chitosan. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 114, p. 929–934, 15 jul. 2018.

FALANGA, V. et al. Chronic wounds. **Nature Reviews Disease Primers** **2022** **8:1**, v. 8, n. 1, p. 1–21, 21 jul. 2022.

FERREIRA, C. R. DO N. Hidrogéis injetáveis à base de goma guar e carboxietilquitosana reforçados com nanopartículas de vidro bioativo com potencial aplicação na engenharia de tecidos. 2024.

GABIUS, H. J. Non-carbohydrate binding partners/domains of animal lectins. **International Journal of Biochemistry**, v. 26, n. 4, p. 469–477, 1 abr. 1994.

GABOR, F. et al. The lectin–cell interaction and its implications to intestinal lectin-mediated drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 56, n. 4, p. 459–480, 3 mar. 2004.

- GEORGE, A.; SHAH, P. A.; SHRIVASTAV, P. S. Guar gum: Versatile natural polymer for drug delivery applications. **European Polymer Journal**, v. 112, p. 722–735, 1 mar. 2019.
- GOH, M. C.; HWANG, Y.; TAE, G. Epidermal growth factor loaded heparin-based hydrogel sheet for skin wound healing. **Carbohydrate Polymers**, v. 147, p. 251–260, 20 ago. 2016.
- GOH, O. Q. et al. Incidence of chronic wounds in Singapore, a multiethnic Asian country, between 2000 and 2017: a retrospective cohort study using a nationwide claims database. **BMJ Open**, v. 10, n. 9, p. e039411, 1 set. 2020.
- GOMES, F. S. et al. Antimicrobial lectin from *Schinus terebinthifolius* leaf. **Journal of Applied Microbiology**, v. 114, n. 3, p. 672–679, 1 mar. 2013.
- GÓMEZ, V.; ANGULO, O.; JOHANA REVISIÓN LAS CARACTERÍSTICAS Y USOS DE LA PLANTA MORINGA OLEÍFERA, K. DE. Sistema de Información Científica. v. 22, n. 2, p. 309–330, 2014.
- GUAR, G. et al. Goma guar: un aliado en la industria alimentaria. **Pädi Boletín Científico de Ciencias Básicas e Ingenierías del ICBI**, v. 7, n. 14, p. 107–111, 5 jan. 2020.
- GUSHIKEN, L. F. S. et al. Cutaneous Wound Healing: An Update from Physiopathology to Current Therapies. **Life 2021, Vol. 11, Page 665**, v. 11, n. 7, p. 665, 7 jul. 2021.
- HASATSRI, S. et al. Comparison of the Morphological and Physical Properties of Different Absorbent Wound Dressings. **Dermatology Research and Practice**, v. 2018, 2018a.
- HENDRIKS, F. M. et al. The relative contributions of different skin layers to the mechanical behavior of human skin in vivo using suction experiments. **Medical Engineering & Physics**, v. 28, n. 3, p. 259–266, 1 abr. 2006.
- HOSGOOD, G. Stages of Wound Healing and Their Clinical Relevance. **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice**, v. 36, n. 4, p. 667–685, 1 jul. 2006.
- IGLESIAS, C. et al. VenUS I: A randomised controlled trial of two types of bandage for treating venous leg ulcers. **Health Technology Assessment**, v. 8, n. 29, 2004.
- ISLAM, Z. et al. Moringa oleifera is a Prominent Source of Nutrients with Potential Health Benefits. **International Journal of Food Science**, v. 2021, 2021.
- JONES, T. H. et al. Novel antifungal activity for the lectin Scytovirin: Inhibition of *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii*. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, n. MAY, p. 249272, 9 maio 2017.

- JOR, J. W. Y. et al. Computational and experimental characterization of skin mechanics: identifying current challenges and future directions. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Systems Biology and Medicine**, v. 5, n. 5, p. 539–556, 1 set. 2013.
- KAZACHENKO, A. S. et al. Theoretical and experimental study of guar gum sulfation. **Journal of Molecular Modeling**, v. 27, n. 1, p. 1–15, 1 jan. 2021.
- KENNEDY, J. F. et al. Lectins, versatile proteins of recognition: a review. **Carbohydrate Polymers**, v. 26, n. 3, p. 219–230, 1 jan. 1995.
- KYAW, B. M. et al. Need for Improved Definition of “Chronic Wounds” in Clinical Studies. **Acta dermato-venereologica**, v. 98, n. 1, p. 157–158, 2018.
- LAING, S. et al. A Dermonutrient Containing Special Collagen Peptides Improves Skin Structure and Function: A Randomized, Placebo-Controlled, Triple-Blind Trial Using Confocal Laser Scanning Microscopy on the Cosmetic Effects and Tolerance of a Drinkable Collagen Supplement. **Journal of Medicinal Food**, v. 23, n. 2, p. 147–152, 1 fev. 2020.
- LAM, S. K.; NG, T. B. Lectins: Production and practical applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 89, n. 1, p. 45–55, 3 jan. 2011.
- LAVÍN DE JUAN, L. et al. Pharmaceutical applications of lectins. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 42, p. 126–133, 1 dez. 2017.
- LEONE, A. et al. Moringa oleifera Seeds and Oil: Characteristics and Uses for Human Health. **International Journal of Molecular Sciences** 2016, Vol. 17, Page 2141, v. 17, n. 12, p. 2141, 20 dez. 2016.
- LEÓN-FÉLIX, J.; ANGULO-ESCALANTE, M. A.; DORADO, R. G. Nutritional and phenolic characterization of moringa Oleifera leaves grown in Sinaloa, México. 2017.
- LI, J.; CHEN, J.; KIRSNER, R. Pathophysiology of acute wound healing. **Clinics in Dermatology**, v. 25, n. 1, p. 9–18, 1 jan. 2007.
- LIMBERT, G. Mathematical and computational modelling of skin biophysics: a review. **Proceedings of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences**, v. 473, n. 2203, 1 jul. 2017.
- LIS, H.; SHARON, N. Lectins: Carbohydrate-specific proteins that mediate cellular recognition. **Chemical Reviews**, v. 98, n. 2, p. 637–674, 1998.
- LIU, F. et al. Film-forming properties of guar gum, tara gum and locust bean gum. **Food Hydrocolloids**, v. 98, p. 105007, 1 jan. 2020.
- LIU, H. et al. A functional chitosan-based hydrogel as a wound dressing and drug delivery system in the treatment of wound healing. **RSC Advances**, v. 8, n. 14, p. 7533–7549, 16 fev. 2018.

LORZ, L. R. et al. Anti-Wrinkling and Anti-Melanogenic Effect of *Pradosia mutisii* Methanol Extract. **International Journal of Molecular Sciences** **2019**, Vol. 20, Page 1043, v. 20, n. 5, p. 1043, 27 fev. 2019.

LOWRY, O. H. et al. Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent. **J Biol Chem**, v. 193, n. 1, p. 265–75, 1951.

LUX, C. N. Wound healing in animals: a review of physiology and clinical evaluation. **Veterinary Dermatology**, v. 33, n. 1, p. 91-e27, 1 fev. 2022.

MADNI, A. et al. Preparation and Applications of Guar Gum Composites in Biomedical, Pharmaceutical, Food, and Cosmetics Industries. **Current Nanoscience**, v. 17, n. 3, p. 365–379, 11 nov. 2020.

MARTINENGO, L. et al. Prevalence of chronic wounds in the general population: systematic review and meta-analysis of observational studies. **Annals of Epidemiology**, v. 29, p. 8–15, 1 jan. 2019.

MARTÍNEZ-BAILÉN, M.; ROJO, J.; RAMOS-SORIANO, J. Multivalent glycosystems for human lectins. **Chemical Society Reviews**, v. 52, n. 2, p. 536–572, 25 jan. 2023.

MATHIOUDAKIS, N. et al. The Society for Vascular Surgery Wound, Ischemia, and foot Infection (WIFI) classification system predicts wound healing but not major amputation in patients with diabetic foot ulcers treated in a multidisciplinary setting. **Journal of Vascular Surgery**, v. 65, n. 6, p. 1698-1705.e1, 1 jun. 2017.

MCDANIEL, J. C.; ROY, S.; WILGUS, T. A. Neutrophil activity in chronic venous leg ulcers—A target for therapy? **Wound Repair and Regeneration**, v. 21, n. 3, p. 339–351, 1 maio 2013.

MEDEIROS, D. S. et al. A lactose specific lectin from the sponge *Cinachyrella* apion: Purification, characterization, N-terminal sequences alignment and agglutinating activity on *Leishmania* promastigotes. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, v. 155, n. 3, p. 211–216, 1 mar. 2010.

MEDEIROS, M. L. S. et al. In vitro effects of *Moringa oleifera* seed lectins on *Haemonchus contortus* in larval and adult stages. **Experimental Parasitology**, v. 218, p. 108004, 1 nov. 2020.

MICHELLE, P.; SILVA, D. A. Potencial antimicrobiano da lectina da sarcotesta de *Punica granatum* (PgTeL) contra patógenos humanos. 19 fev. 2019.

MILLA, P. G.; PEÑALVER, R.; NIETO, G. Health Benefits of Uses and Applications of *Moringa oleifera* in Bakery Products. **Plants** **2021**, Vol. 10, Page 318, v. 10, n. 2, p. 318, 6 fev. 2021.

MINUTTI, C. M. et al. Tissue-specific contribution of macrophages to wound healing. **Seminars in Cell & Developmental Biology**, v. 61, p. 3–11, 1 jan. 2017.

MISHRA, A. et al. Structure-function and application of plant lectins in disease biology and immunity. **Food and Chemical Toxicology**, v. 134, p. 110827, 1 dez. 2019.

MONAVARIAN, M. et al. Regenerative Scar-Free Skin Wound Healing. <https://home.liebertpub.com/teb>, v. 25, n. 4, p. 294–311, 2 ago. 2019.

MOREIRA COSTA¹, A. et al. Custos do tratamento de úlceras por pressão em unidade de cuidados prolongados em uma instituição hospitalar de Minas Gerais. **Enfermagem Revista**, v. 18, n. 1, p. 58–74, 13 abr. 2015.

MORTON, L. M.; PHILLIPS, T. J. Wound healing and treating wounds: Differential diagnosis and evaluation of chronic wounds. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 74, n. 4, p. 589–605, 1 abr. 2016a.

MORTON, L. M.; PHILLIPS, T. J. Wound healing and treating wounds: Differential diagnosis and evaluation of chronic wounds. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 74, n. 4, p. 589–605, 1 abr. 2016b.

NAPOLEÃO, T. H. et al. Affinity matrices of Cratylia mollis seed lectins for isolation of glycoproteins from complex protein mixtures. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 171, n. 3, p. 744–755, 28 out. 2013.

NUSSBAUM, S. R. et al. An Economic Evaluation of the Impact, Cost, and Medicare Policy Implications of Chronic Nonhealing Wounds. **Value in Health**, v. 21, n. 1, p. 27–32, 1 jan. 2018.

OLSON, M. E. Combining Data from DNA Sequences and Morphology for a Phylogeny of Moringaceae (Brassicales). <https://doi.org/10.1043/0363-6445-27.1.55>, v. 27, n. 1, p. 55–73, 1 jan. 2002.

O'MEARA, S. et al. Compression for venous leg ulcers. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, v. 2012, n. 11, 14 nov. 2012.

PAIKRA, B. K.; DHONGADE, H. K. J.; GIDWANI, B. Phytochemistry and Pharmacology of Moringa oleifera Lam. **Journal of Pharmacopuncture**, v. 20, n. 3, p. 194, 1 set. 2017.

PAJIC, I. et al. A novel lectin from the sponge Haliclona cratera: isolation, characterization and biological activity. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 132, n. 2, p. 213–221, 1 jun. 2002.

PATRIOTA, L. L. DE S. et al. Antitumor activity of Moringa oleifera (drumstick tree) flower trypsin inhibitor (MoFTI) in sarcoma 180-bearing mice. **Food and Chemical Toxicology**, v. 145, p. 111691, 1 nov. 2020.

PETER, A. et al. Antibacterial activity of Moringa oleifera and Moringa stenopetala methanol and n-hexane seed extracts on bacteria implicated in water borne diseases. **African Journal of Microbiology Research**, v. 5, n. 2, p. 153–157, 2011.

PEUMANS, W. J.; VAN DAMME, E. J. M. Plant Lectins: Versatile Proteins with Important Perspectives in Biotechnology. **Biotechnology and Genetic Engineering Reviews**, v. 15, n. 1, p. 199–228, 1998.

PISSARENKO, A.; MEYERS, M. A. Reprint of: The materials science of skin: Analysis, characterization, and modeling. **Progress in Materials Science**, v. 120, p. 100816, 1 jul. 2021.

PMG PAIVA, T. N. N. S. M. C. D. N. L. C. Plant Compounds With Aedes Aegypti Larvicidal Activity And Other Biological Properties. **Nova Science Publishers**, p. 271–296, 2011.

PORTELA, R. et al. Bacterial cellulose: a versatile biopolymer for wound dressing applications. **Microbial Biotechnology**, v. 12, n. 4, p. 586–610, 1 jul. 2019.

PRABAHARAN, M. Prospective of guar gum and its derivatives as controlled drug delivery systems. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 49, n. 2, p. 117–124, 2011.

Principles of Anatomy and Physiology - Gerard J. Tortora, Bryan H. Derrickson - Google Livros. Disponível em: https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=aSaVDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR4&ots=If-nZO8xrP&sig=AEPZ8lu2yyIsg5JMo18hPhOZSn0&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false. Acesso em: 29 abr. 2024.

RAHMANI, H. et al. Preparation of chitosan-based composites with urethane cross linkage and evaluation of their properties for using as wound healing dressing. **Carbohydrate Polymers**, v. 230, p. 115606, 15 fev. 2020.

RAJA, S. B. et al. Isolation and Partial Characterisation of a Novel Lectin from Aegle marmelos Fruit and Its Effect on Adherence and Invasion of Shigellae to HT29 Cells. **PLOS ONE**, v. 6, n. 1, p. e16231, 2011.

REINKE, J. M.; SORG, H. Wound Repair and Regeneration. **European Surgical Research**, v. 49, n. 1, p. 35–43, 1 ago. 2012.

RITTIÉ, L.; FISHER, G. J. Natural and Sun-Induced Aging of Human Skin. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 5, n. 1, p. a015370, 1 jan. 2015.

RODRIGUES, A. T.; [HTTP://LATTES.CNPQ.BR/6990009633997936](http://lattes.cnpq.br/6990009633997936). Prevalência e caracterização de feridas crônicas na Atenção Primária à Saúde de um município da região central de Minas Gerais. 6 jul. 2023.

RODRIGUES, M. et al. Wound healing: A cellular perspective. **Physiological Reviews**, v. 99, n. 1, p. 665–706, 1 jan. 2019a.

RODRIGUES, M. et al. Wound healing: A cellular perspective. **Physiological Reviews**, v. 99, n. 1, p. 665–706, 1 jan. 2019b.

ROGER, M. et al. Bioengineering the microanatomy of human skin. **Journal of Anatomy**, v. 234, n. 4, p. 438–455, 1 abr. 2019.

ROSAS-BURGOS, E. C. et al. Antimicrobial activity of pomegranate peel extracts as affected by cultivar. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 97, n. 3, p. 802–810, 1 fev. 2017.

SAINI, R. K.; SHETTY, N. P.; GIRIDHAR, P. Carotenoid content in vegetative and reproductive parts of commercially grown *Moringa oleifera* Lam. cultivars from India by LC-APCI-MS. **European Food Research and Technology**, v. 238, n. 6, p. 971–978, 15 fev. 2014.

SANTOS, A. F. S. et al. Isolation of a seed coagulant *Moringa oleifera* lectin. **Process Biochemistry**, v. 44, n. 4, p. 504–508, 1 abr. 2009.

SANTOS, A. F. S. et al. Interaction of *Moringa oleifera* seed lectin with humic acid. **Chemical Papers**, v. 65, n. 4, p. 406–411, 15 mar. 2011.

SHARMA, G. et al. Guar gum and its composites as potential materials for diverse applications: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 199, p. 534–545, 1 nov. 2018.

SHIN, J. W. et al. Molecular Mechanisms of Dermal Aging and Antiaging Approaches. **International Journal of Molecular Sciences** 2019, Vol. 20, Page 2126, v. 20, n. 9, p. 2126, 29 abr. 2019.

SHIN, Y. C. et al. Hyaluronic Acid/PLGA Core/Shell Fiber Matrices Loaded with EGCG Beneficial to Diabetic Wound Healing. **Advanced Healthcare Materials**, v. 5, n. 23, p. 3035–3045, 1 dez. 2016.

SILVA, N. C. DA et al. Morfofisiologia da pele e o processo de envelhecimento cutâneo. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, v. 24, n. 4, p. e16051–e16051, 18 abr. 2024.

SILVA, P. M. DA. Potencial antimicrobiano da lectina da sarcotesta de *Punica granatum* (PgTeL) contra patógenos humanos. 19 fev. 2019.

SILVA, S. S. S. DA. Avaliação da atividade antifúngica da lectina coagulante das sementes de *Moringa oleifera* contra *Cryptococcus*. 26 abr. 2023.

SNYDER, R. J.; FIFE, C.; MOORE, Z. Components and Quality Measures of DIME (Devitalized Tissue, Infection/Inflammation, Moisture Balance, and Edge Preparation) in Wound Care. **Advances in Skin and Wound Care**, v. 29, n. 5, p. 205–215, 1 maio 2016.

SOUZA, J. D. et al. A new *Bauhinia monandra* galactose-specific lectin purified in milligram quantities from secondary roots with antifungal and termiticidal activities. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 65, n. 5, p. 696–702, 1 ago. 2011.

STRONG, A. L. et al. Fetal Bovine Collagen Matrix in the Treatment of a Full Thickness Burn Wound: A Case Report With Long-Term Follow-Up. **Journal of Burn Care & Research**, v. 37, n. 3, p. e292–e297, 1 maio 2016.

TOMIC-CANIC, M.; WONG, L. L.; SMOLA, H. The epithelialisation phase in wound healing: Options to enhance wound closure. **Journal of Wound Care**, v. 27, n. 10, p. 646–658, 1 out. 2018.

TORKAMAN, S. et al. Modification of chitosan using amino acids for wound healing purposes: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 258, p. 117675, 15 abr. 2021.

TOTTOLI, E. M. et al. Skin Wound Healing Process and New Emerging Technologies for Skin Wound Care and Regeneration. **Pharmaceutics** 2020, Vol. 12, Page 735, v. 12, n. 8, p. 735, 5 ago. 2020.

UNNITHAN, A. R. et al. Electrospun Polyurethane Nanofibrous Mats for Wound Dressing Applications. **Polyurethane Polymers: Blends and Interpenetrating Polymer Networks**, p. 233–246, 1 jan. 2017.

VAN DAMME, E. J. M. et al. Isolation and molecular cloning of a novel type 2 ribosome-inactivating protein with an inactive B chain from elderberry (*Sambucus nigra*) bark. **Journal of Biological Chemistry**, v. 272, n. 13, p. 8353–8360, 28 mar. 1997.

VARAPRASAD, K. et al. Alginate-based composite materials for wound dressing application: A mini review. **Carbohydrate Polymers**, v. 236, p. 116025, 15 maio 2020.

VICENTE, R. M. et al. A espécie *Moringa oleífera* Lam. E suas propriedades na fitocosmética: Uma revisão de literatura. **Brazilian Journal of Development**, v. 9, n. 1, p. 1093–1103, 5 jan. 2023.

WILHELM, K. P.; WILHELM, D.; BIELFELDT, S. Models of wound healing: an emphasis on clinical studies. **Skin Research and Technology**, v. 23, n. 1, p. 3–12, 1 fev. 2017.

WILKES, G. L.; BROWN, I. A.; WILDNAUER, R. H. The biomechanical properties of skin. **CRC Critical Reviews in Bioengineering**, v. 1, n. 4, p. 453–495, 1 ago. 1973.

WINTER, H. C.; MOSTAFAPOUR, K.; GOLDSTEIN, I. J. The mushroom *Marasmius oreades* lectin is a blood group type B agglutinin that recognizes the Gal α 1,3Gal and Gal α 1,3Gal, β 1,4GlcNAc porcine xenotransplantation epitopes with high affinity. **Journal of Biological Chemistry**, v. 277, n. 17, p. 14996–15001, 26 abr. 2002.

YAO, C. H. et al. Novel bilayer wound dressing based on electrospun gelatin/keratin nanofibrous mats for skin wound repair. **Materials Science and Engineering: C**, v. 79, p. 533–540, 1 out. 2017.

YIN, Z. et al. The adsorption behavior of hydroxypropyl guar gum onto quartz sand. **Journal of Molecular Liquids**, v. 258, p. 10–17, 15 maio 2018.

YU, X. et al. A self-healing and injectable oxidized quaternized guar gum/carboxymethyl chitosan hydrogel with efficient hemostatic and antibacterial properties for wound dressing. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 209, p. 112207, 1 jan. 2022.

YUSSOF, S. J. M. et al. Cellular events and biomarkers of wound healing. **Indian Journal of Plastic Surgery**, v. 45, n. 2, p. 220–228, maio 2012.

ZHU, X. et al. Health-related quality of life and chronic wound characteristics among patients with chronic wounds treated in primary care: A cross-sectional study in Singapore. **International Wound Journal**, v. 19, n. 5, p. 1121–1132, 1 ago. 2022.