



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE BIOCÊNCIAS  
BACHARELADO EM BIOMEDICINA**

**ANA LUIZA COSTA FERREIRA**

**Avaliação de um composto bioativo de alga marinha:**  
Análise da toxicidade oral aguda de um polissacarídeo sulfatado de  
*Gracilaria cuneata*

**Recife  
2024**

ANA LUIZA COSTA FERREIRA

**Avaliação de um composto bioativo de alga marinha:**  
Análise da toxicidade oral aguda de um polissacarídeo sulfatado de  
*Gracilaria cuneata*

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Biomedicina da Universidade Federal de Pernambuco, como pré-requisito à obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

Orientador: Dr. Renan Oliveira Silva Damasceno

Coorientador: Msc. Lorena Duarte da Silva

**Recife  
2024**

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Ferreira, Ana Luiza Costa.

Avaliação de um composto bioativo de alga marinha: Análise da toxicidade oral aguda de um polissacarídeo sulfatado de *Gracilaria cuneata* / Ana Luiza Costa Ferreira. - Recife, 2024.

66p : il., tab.

Orientador(a): Renan Oliveira Silva Damasceno

Coorientador(a): Lorena Duarte Da Silva

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Biomedicina, 2024.

Inclui referências, anexos.

1. Algas Marinhas. 2. Agaranas. 3. Polissacarídeos Sulfatados. 4. *Gracilaria cuneata*. 5. Toxicidade Oral Aguda. I. Damasceno, Renan Oliveira Silva. (Orientação). II. Silva, Lorena Duarte Da. (Coorientação). IV. Título.

610 CDD (22.ed.)

ANA LUIZA COSTA FERREIRA

**Avaliação de um composto bioativo de alga marinha:**  
Análise da toxicidade oral aguda de um polissacarídeo sulfatado de  
*Gracilaria cuneata*

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Biomedicina da Universidade Federal de Pernambuco, como pré-requisito à obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

Aprovada em: 09/10/2024

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientador: Prof. Dr. Renan Oliveira Silva Damasceno  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Msc. João Lucas Silva Pinheiro  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Msc. Widarlane Ângela da Silva Alves  
Universidade Federal de Pernambuco

Dedico este trabalho à minha avó, Josefa Ana da Costa, à minha mãe, Marlene Ramos da Costa e à minha irmã, Marília Gabriela Costa Ferreira, por serem as pessoas com quem tive a sorte e a felicidade de aprender o significado do amor e família.

## **AGRADECIMENTOS**

A minha querida e amada vovó Zefinha, que sempre esteve comigo e que sempre me apoiou, és a minha maior saudade.

A minha mãe, Marlene, por ser a mulher mais incrível, batalhadora e bondosa a qual tenho a honra de partilhar meus dias, minhas conquistas e meu amor. Obrigada por nunca medir esforços para facilitar minha vida, por cuidar de mim todos os dias como ninguém, por me amar e por ser presente sempre. És o maior motivo de tudo o que faço, te amo infinitamente.

A minha irmã, Marília, a qual cuida de mim desde muito nova, que sempre me colocou em primeiro lugar e que me ensinou tanto das coisas da vida. Nossa parceria, amizade e irmandade é algo além deste mundo, não me vejo em uma vida sem você ao meu lado. Ao meu cunhado, Bruno, por todo suporte, conselhos e conversas nesses anos.

A meu pai, João Vianez, pelo carinho e suporte nesses últimos anos, sua presença em minha vida é algo que sempre irei amar.

A Deus, ao universo, ao destino, por proporcionar o encontro com o meu amor, Nicolly. Obrigada, meu bem, por todo companheirismo, parceria, risadas, cafés e confortos nesses meus anos da graduação, tenho sorte de amar e ser amada por você.

A minha tia Martha, não só por ser um exemplo na vida acadêmica, mas principalmente por ter sido essa pessoa espetacular, divertida, amorosa e única que a senhora foi para todos aqueles que um dia cruzaram seu caminho. Obrigada por tudo, minha tia, a senhora nos ensinou como a vida deve ser vivida e isso sempre irá ecoar em meu coração.

Aos meus padrinhos, Rafaely e Marcelino, por todo amor, cuidado, presença nos meus dias e por sempre me incentivar a lutar por meus sonhos.

A Aymê e Hiago, por todos os momentos, risadas e conversas. Vocês me ajudaram bastante a aliviar as pressões.

A minha enorme e linda família, por estar presente e por sermos tão unidos, brincalhões e solícitos.

As minhas meninas da biomedicina, Aline, Alice, Júlia, Laís, Mariane, Mayara, Mayza, Vivian e Thamires, pela companhia em toda graduação, sem vocês não teria

sido uma experiência tão incrível e boa. Que felicidade ter encontrado vocês no caminho, nosso grande grupo terá sempre um lugar especial em meu coração, amo vocês.

As minhas meninas do Jarbas, foi e é um prazer dividir tantos momentos com vocês.

Ao meu orientador, Renan Oliveira Damasceno, pelos ensinamentos e pela oportunidade de atuar no Laboratório de Investigação de Desordens Digestivas (LIDD) e a minha coorientadora, Lorena Duarte, por todo suporte nessa trajetória.

Aos meus queridos companheiros do LIDD, Lucas, Lorena, Cecilia, João, Arthur e Victória por todo aprendizado, auxílio nos experimentos, risadas e parceria nesses últimos anos.

Ao departamento de Fisiologia e Farmacologia da UFPE, pelo suporte dado a meu projeto de pesquisa. A Seu Hildes, que se tornou um querido amigo e me ajudou bastante em minhas atividades e a Charles por todo suporte.

A todos meu colegas estagiários e preceptores do Hospital das Clínicas, vocês foram fundamentais em minha caminhada.

Ao CNPQ pelo auxílio financeiro para a realização do presente projeto.

A todos professores que participaram e marcaram a minha trajetória, sem o dom de vocês em compartilhar o conhecimento não estaria realizando esse sonho que é estar na UFPE.

Por fim, a todos que participaram de alguma forma em minha vida e da minha trajetória acadêmica, cada encontro na vida tem sua função e sou bastante grata por isso.

*“Vivam, sejam felizes e nunca se esqueçam de que, até o dia em que Deus quiser desvendar o futuro ao homem, toda sabedoria humana se encontrará nestas palavras: Esperar e ter esperança.”*

(Alexandre Dumas)

FERREIRA, Ana Luiza Costa. **Avaliação de um composto bioativo de alga marinha**: Análise da toxicidade oral aguda de um polissacarídeo sulfatado de *Gracilaria cuneata*. 2024. 67p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2024.

## RESUMO

As algas marinhas são organismos essenciais para a sustentabilidade e a biodiversidade do ecossistema marinho. Além disso, despertam interesse no campo das ciências biomédicas por produzirem moléculas bioativas, como os polissacarídeos sulfatados (PSs). Nesse contexto, os PSs extraídos do gênero *Gracilaria* são investigados em modelos experimentais e possuem diversas propriedades terapêuticas descritas. Porém, estudos pré-clínicos acerca da toxicidade do polissacarídeo sulfatado extraído da alga vermelha *Gracilaria cuneata* (PS-Gc) ainda são escassos na literatura. Assim, este estudo avaliou a toxicidade aguda do PS-Gc em camundongos Balb/c fêmeas. Os animais foram tratados com o PS-Gc (2000 mg/kg), em dose oral única, enquanto os animais controle receberam apenas solução salina. Os camundongos foram submetidos a um período de observação de 14 dias, no qual foi registrado o peso corporal (g) e foi avaliado o comportamento geral. No final do protocolo, o sangue foi coletado para avaliação dos principais marcadores bioquímicos de função renal e hepática. Para análise anatômica dos órgãos, o coração, baço, rins, fígado e pulmões, foram fotografados, pesados e preparados para análise histológica. Os resultados demonstraram que o PS-Gc não alterou o ganho de peso nem o comportamento geral dos camundongos, não sendo visualizada mortalidade no protocolo experimental. O PS-Gc não alterou o peso relativo dos órgãos, assim como seus parâmetros morfológicos. Por fim, o PS-Gc não demonstrou perda de função ou lesões teciduais na dosagem de biomarcadores e na análise microscópica dos órgãos, respectivamente. Logo, o presente estudo demonstrou que o tratamento com o polissacarídeo sulfatado de *G. cuneata* não apresentou toxicidade aguda nos camundongos, contribuindo para implementação do PS-Gc em modelos murinos experimentais com a finalidade de explorar seus efeitos terapêuticos.

**Palavras-chave:** Algas Marinhas. Agaranas. Polissacarídeos Sulfatados. *Gracilaria cuneata*. Toxicidade Oral Aguda.

Ferreira, Ana Luiza Costa. **Evaluation of a bioactive marine algae compound: Analysis of the acute oral toxicity of a sulfated polysaccharide from *Gracilaria cuneata*.** 2024. 67p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2024.

### **ABSTRACT**

Marine algae are essential organisms for the sustainability and biodiversity of the marine ecosystem. Furthermore, they arouse interest in the field of biomedical sciences because they produce bioactive molecules, such as sulfated polysaccharides (PSs). In this context, PSs extracted from the genus *Gracilaria* are investigated in experimental models and have several described therapeutic properties. However, preclinical studies on the toxicity of sulfated polysaccharides extracted from the red seaweed *Gracilaria cuneata* (PS-Gc) are still scarce in the literature. Thus, this study evaluated the acute toxicity of PS-Gc in female Balb/c mice. The animals were treated with PS-Gc (2000 mg/kg), in a single oral dose, while the control animals received only saline solution. The mice were subjected to a 14-day observation period, during which their body weight (g) was recorded and their general behavior was evaluated. At the end of the protocol, blood was collected to assess the main biochemical markers of renal and hepatic function. For anatomical analysis of the organs, the heart, spleen, kidneys, liver, and lungs were photographed, weighed, and prepared for histological analysis. The results demonstrated that PS-Gc did not alter the mice's weight gain or general behavior, and no mortality was observed in the experimental protocol. PS-Gc did not alter the relative weight of the organs, as well as their morphological parameters. Finally, PS-Gc did not declare loss of function or tissue lesions in the dosage of biomarkers and the microscopic analysis of the organs, respectively. Therefore, the present study demonstrated that treatment with the sulfated polysaccharide of *G. cuneata* did not present acute toxicity in mice, contributing to the improvement of PS-Gc in experimental murine models to explore its therapeutic effects.

**Keywords:** Marine algae. Agars. Sulfated Polysaccharides. *Gracilaria cuneata*. Acute Toxicity.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1.</b> Gêneros de algas representantes dos 3 filos principais .....	18
<b>Figura 2.</b> Esquema ilustrativo da parede celular de algas marinhas. ....	19
<b>Figura 3.</b> As principais estruturas químicas de carrageninas. ....	20
<b>Figura 4.</b> Estrutura química do porfirano. ....	21
<b>Figura 5.</b> Métodos de extração de polissacarídeos sulfatados. ....	23
<b>Figura 6.</b> Protocolo experimental de toxicidade aguda do PS-Gc. ....	36
<b>Figura 7.</b> Variação do peso corporal de animais tratados com PS-Gc. ....	40
<b>Figura 8.</b> Macroscopia dos órgãos de animais tratados com PS-Gc. ....	43
<b>Figura 9.</b> Peso relativo dos órgãos de animais tratados com PS-Gc. ....	43
<b>Figura 10.</b> Fotomicrografia dos órgãos de animais tratados com PS-Gc. ....	47
<b>Figura 11.</b> Resumo ilustrativo da avaliação toxicológica do PS-Gc. ....	50

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Atividades biológicas de polissacarídeos sulfatados no TGI.....	25
<b>Tabela 2</b> – Efeito hepatoprotetor de polissacarídeos sulfatados.....	26
<b>Tabela 3</b> – Efeito antioxidante de polissacarídeos sulfatados.....	29
<b>Tabela 4</b> – <i>Screening</i> hipocrático de animais tratados com PS-Gc.....	41
<b>Tabela 5</b> – Marcadores bioquímicos de função renal e hepática de animais tratados com o PS-Gc.....	46

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidrazila
ABTS	ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)
EDTA	ácido etilenodiamino tetra-acético
TNBS	ácido trinitrobenzenossulfônico
SCFA	ácidos graxos de cadeia curta
ALT	alanina aminotransferase
AST	aspartato aminotransferase
COX-2	ciclooxigenase-2
COBEA	Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
CEUA	Comitê de Ética no Uso de Animais
EPM	erro padrão da média
EROs	espécies reativas de oxigênio
MAE	extração assistida por micro-ondas
UAE	extração assistida por ultrassom
HWE	extração convencional por água quente
EAE	extração enzimática
SWE	extração subcrítica de água
TNF- $\alpha$	fator de necrose tumoral alfa
ALP	fosfatase alcalina
GSH	glutathiona
GPx	glutathiona peroxidase
H&E	hematoxilina e eosina
IL-1 $\beta$	interleucina 1 - beta
IL-6	interleucina 6
Fe <sup>2+</sup>	hidróxido ferroso
LRA	lesão renal aguda
LPS	lipopolissacarídeos
HDL	lipoproteína de alta densidade
LDL	lipoproteína de baixa densidade
MDA	malondialdeído
MPO	mieloperoxidase

OECD/OCDE	Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico
iNOS	óxido nítrico sintase induzível
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	peróxido de hidrogênio
PS-Gc	polissacarídeo sulfatado extraído da alga vermelha <i>Gracilaria cur</i>
PSs	polissacarídeos sulfatados
PCR	proteína c reativa
OH <sup>-</sup>	hidroxila
GM1	receptores de gangliosídeos
SNA	sistema nervoso autônomo
SNC	sistema nervoso central
DSS	sulfato de sódio dextrano
TFG	taxa de filtração glomerular
TBZ	tebuconazol
TAA	tioacetamida
CTX	toxina da cólera
TGI	trato gastrointestinal
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>15</b>
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>17</b>
2.1 ALGAS MARINHAS COMO FONTE DE COMPOSTOS BIOATIVOS .....	17
2.2 POLISSACARÍDEOS SULFATADOS DE ALGAS VERMELHAS .....	20
2.2.1 Estrutura e composição química .....	20
2.2.2 Métodos de extração .....	22
2.3 EFEITOS BIOLÓGICOS DOS POLISSACARÍDEOS SULFATADOS .....	24
2.3.1 Proteção contra desordens digestivas .....	24
2.3.2 Hepatoprotetor .....	26
2.3.3 Antioxidante .....	28
2.4 AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA DE NOVOS COMPOSTOS .....	30
2.5 POLISSACARÍDEO SULFATADO DE <i>GRACILARIA CUNEATA</i> .....	32
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	<b>34</b>
3.1 OBJETIVO GERAL .....	34
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	34
<b>4 METODOLOGIA</b> .....	<b>35</b>
4.1 EXTRAÇÃO DO POLISSACARÍDEO DE <i>GRACILARIA CUNEATA</i> .....	35
4.2 ANIMAIS .....	35
4.3 PROTOCOLO EXPERIMENTAL .....	35
4.4 AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL GERAL – <i>SCREENING</i> HIPOCRÁTICO .....	36
4.5 ANÁLISE MACROSCÓPICA E PESO RELATIVO DOS ÓRGÃOS .....	36
4.6 ANÁLISES BIOQUÍMICAS .....	37
4.7 ANÁLISE HISTOLÓGICA .....	37
4.8 ANÁLISES ESTATÍSTICAS .....	37
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>39</b>
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	<b>49</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>51</b>
<b>ANEXOS</b> .....	<b>67</b>

## 1 INTRODUÇÃO

As algas marinhas desempenham um papel essencial na sustentabilidade e biodiversidade do ecossistema marinho, representando uma parte significativa da biomassa oceânica e sendo fundamentais para a manutenção de um ambiente pelágico saudável (SILVA et al., 2022). Por meio da fotossíntese, elas produzem uma quantidade substancial de oxigênio, que não apenas sustenta a vida marinha, mas também exerce um impacto positivo na vida terrestre (MENAA et al., 2020).

Dessa forma, com base em sua composição química e pigmentação, as algas são definidas em três principais filos: Phaeophyta (algas marrons), Chlorophyta (algas verdes) e Rhodophyta (algas vermelhas), cada um com aplicações industriais específicas (MENAA et al., 2021). Além disso, são extremamente conhecidas como uma rica fonte de biomoléculas ativas, como compostos fenólicos, ésteres, ágar e polissacarídeos sulfatados, que foram descritos por seus potenciais benefícios à saúde (RENGASAMY et al., 2020). Nesse contexto, o estudo dos polissacarídeos sulfatados se destaca, especialmente por suas propriedades terapêuticas promissoras em diversas áreas da saúde.

Os polissacarídeos sulfatados (PSs) são componentes estruturais fundamentais da parede celular ou da matriz extracelular das algas marinhas. Eles desempenham um papel essencial no equilíbrio iônico, na proteção e na resistência mecânica das algas frente à ação das ondas marinhas (PERCIVAL, 1979). Constituídos por biopolímeros compostos por monossacarídeos unidos por ligações glicosídicas (Cuellar-bermudez et al., 2015), a atividade biológica dos PSs está estreitamente relacionada à sua conformação estrutural, composição de monossacarídeos, teor de sulfatação, posição dos grupos éster de sulfato e peso molecular (SOUSA et al., 2016). Deste modo, a partir de condições otimizadas de cultivo e de extração, a integridade estrutural dos PSs e suas propriedades biológicas são facilmente preservadas, o que desperta interesse na produção industrial em larga escala (IBAÑEZ; CIFUENTES, 2013).

O gênero *Gracilaria* é composto por variadas espécies de algas vermelhas que ocupam a costa atlântica brasileira, principalmente no litoral nordestino (BEZERRA et al., 2018a). Essas algas são conhecidas como matéria-prima para extração de ágar, uma família de galactanos sulfatados, que possuem elevado grau alimentício e

propriedades gelificantes (LI; LIU, 2022). Ademais, PSs extraídos do gênero *Gracilaria* apresentaram uma ampla gama de atividades em diversos modelos experimentais, como atividade antioxidante (AZIZ et al., 2021), gastroprotetora (SILVA et al., 2011) e hipoglicemiante (LI et al., 2024).

Embora uma variedade de estudos tenha investigado o potencial biológico dos PSs isolados de algas marinhas, há uma limitação significativa na disponibilidade de dados referentes à toxicidade dessas moléculas. No contexto específico do gênero *Gracilaria*, as atividades biológicas dos PSs são amplamente documentadas; no entanto, as investigações sobre a toxicidade e a segurança terapêutica do polissacarídeo sulfatado extraído de *Gracilaria cuneata* (PS-Gc) permanecem escassas. Assim, torna-se imperativo conduzir uma investigação sobre o PS-Gc para avaliar potenciais efeitos tóxicos associados ao seu uso terapêutico.

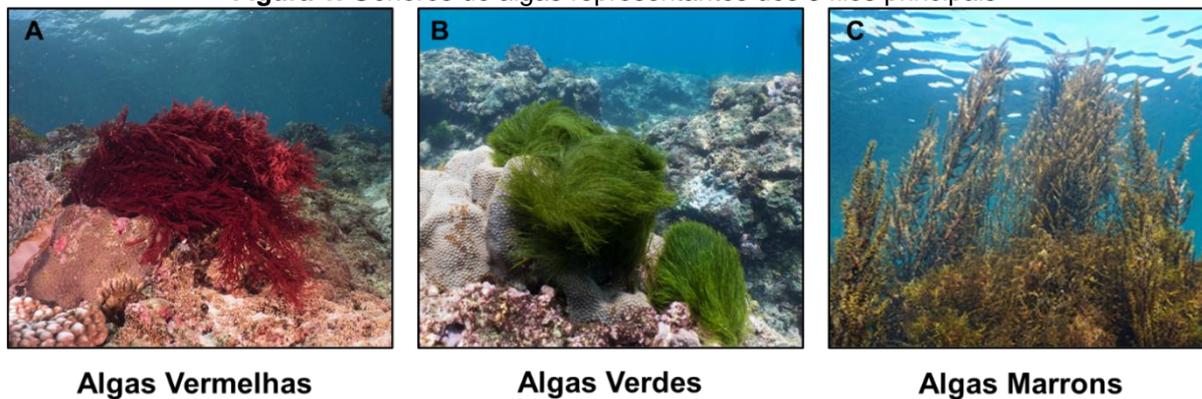
## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 ALGAS MARINHAS COMO FONTE DE COMPOSTOS BIOATIVOS

As algas marinhas são organismos eucarióticos autotróficos essenciais para a biodiversidade marinha e representam uma parte considerável da biomassa oceânica (VEERAGURUNATHAN et al., 2023). Elas abrangem milhares de espécies distribuídas ao longo das áreas costeiras do mundo, crescem em variadas condições climáticas e seu cultivo desperta interesse por ter impacto mínimo no meio ambiente (MAHADEVAN, 2015). As algas são consideradas produtoras primárias, pois sustentam a base da teia alimentar no ecossistema marinho, produzindo matéria orgânica para variados organismos (SALIDO; SOTO; SEOANE, 2024). Além disso, sua importância ecológica também provém da sua capacidade de servir como habitat para várias espécies de animais marinhos (GHALIAOUI; HAZZIT; MOKRANE, 2024), por auxiliar na estabilização costeira frente a erosão (SHARMA et al., 2024) e por gerar uma quantidade substancial de oxigênio que sustenta a vida marinha e em grande parte a vida terrestre (MENAA et al., 2020).

Atualmente, esses organismos são categorizados em três filos principais com base em sua composição química e pigmentação: *Phaeophyta* (alga marrom), *Chlorophyta* (alga verde) e *Rhodophyta* (alga vermelha) (MENAA et al., 2021). A figura 1 ilustra três gêneros representativos de cada filo. Dessa forma, foi demonstrado que os pigmentos não apenas fazem parte dos processos fisiológicos das algas, facilitando a fotossíntese e garantindo a sobrevivência desses organismos, mas também representam compostos com significativa relevância biotecnológica e farmacêutica, que é atribuído por uma série de atividades biológicas, como antioxidantes e anti-inflamatórias (Rashidi et al., 2019). Nesse contexto, as algas marrons são caracterizadas por maior concentração de pigmentos como fucoxantina, clorofila a e feofitina a, enquanto as algas verdes contêm predominantemente clorofila a e b,  $\beta$ -caroteno, violaxantina e sifonaxantina; as algas vermelhas, por outro lado, são compostas principalmente de ficoeritrina, um tipo de ficobiliproteína (Yalçin et al., 2021).

**Figura 1.** Gêneros de algas representantes dos 3 filos principais



Fonte: RICKARD ZERPE, 2019 (algas vermelhas e verdes); iStockphoto, 2023 (algas marrons). Fotografias ilustrativas de algas vermelhas, verdes e marrons, com *Gracilaria* sp. (A), *Ulva* sp. (B) e *Sargassum* sp. (C).

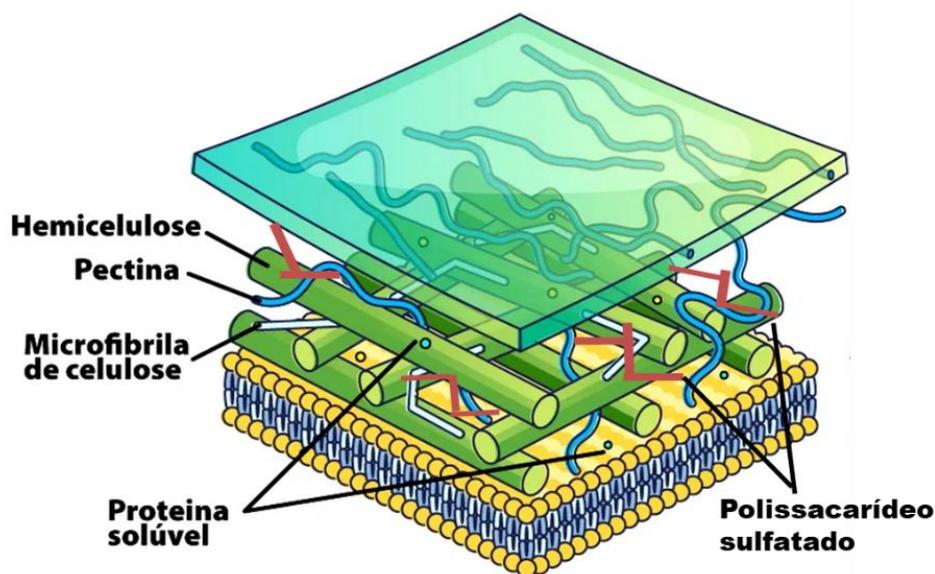
Além dos pigmentos, as algas marinhas despertam interesse devido ao seu rico valor nutricional e aplicação na indústria alimentícia global (MATOS; NOVELLI; TRIBUZI, 2023). Historicamente, as algas participaram ativamente na alimentação e na economia de países orientais, como no leste asiático, onde contribuíram no crescimento industrial de algas marinhas, impactando positivamente a economia por meio do cultivo otimizado (HWANG et al., 2019). Ademais, é evidenciado que o consumo cultural desses organismos marinhos está associado a significativos benefícios à saúde, um menor risco de doenças cardiovasculares e um aumento da longevidade (HAFTING et al., 2015)

As algas vermelhas, em especial *Gracilaria* sp., são amplamente conhecidas por produzirem grandes quantidades de carrageninas e agaranas, famílias de galactanos sulfatados (NAKAMURA-GOUVEA et al., 2022). Esse grupo de algas pertencem à ordem Gracilariales e ocupam a costa atlântica brasileira, principalmente no litoral nordestino (BEZERRA et al., 2018). O gênero *Gracilaria* possui alto valor econômico, tendo em vista que é uma das principais fontes de extração global do ágar, um hidrocolóide com múltiplos usos na indústria alimentícia, farmacêutica e cosmética (YOSHIMURA, 2006). Em paralelo, as algas representam uma rica fonte de moléculas bioativas, tais como compostos fenólicos, ésteres, ágares e polissacarídeos sulfatados (PSs), que têm sido explorados na biomedicina por seus potenciais benefícios à saúde (RENGASAMY et al., 2020).

Nesse contexto, os PSs são biopolímeros compostos por monossacarídeos unidos por ligações glicosídicas (CUELLAR-BERMUDEZ et al., 2015). Essas

macromoléculas são componentes estruturais fundamentais da parede celular ou da matriz extracelular das algas marinhas, fornecendo suporte estrutural e proteção contra estresses ambientais, como em águas hipersalinas (SHAO; DUAN, 2022). Além disso, desempenham um papel essencial no equilíbrio iônico, na proteção e na resistência mecânica das algas frente à ação das ondas marinhas (PERCIVAL, 1979)

**Figura 2.** Esquema ilustrativo da parede celular de algas marinhas.



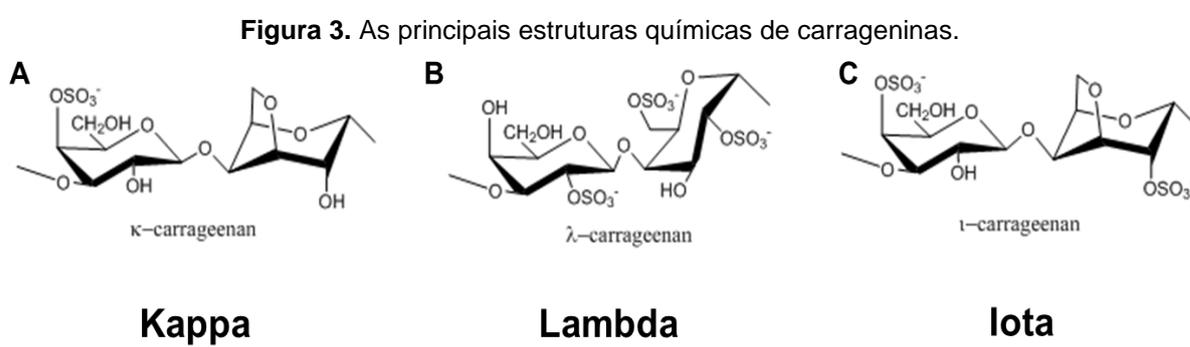
Fonte: Adaptado de CASTILHO, (2008).

## 2.2 POLISSACARÍDEOS SULFATADOS DE ALGAS VERMELHAS

### 2.2.1 Estrutura e composição química

Os polissacarídeos produzidos por algas vermelhas, em especial da ordem Gracilariales, consistem em agaranas e carrageninas, tipos de galactanos sulfatados. A classificação dos polissacarídeos leva em consideração a composição monomérica e a sua conformação tridimensional (BILAN et al., 2017). Dessa forma, são categorizados de acordo com suas propriedades estereoquímicas e, dependendo da configuração enantiomérica das unidades alfa, as carrageninas são designadas como D-galactanas de alto peso molecular, enquanto as agaranas são classificadas como L-galactanas (JIAO et al., 2011). Além disso, esses galactanos sulfatados são fundamentalmente compostos por unidades repetitivas de monossacarídeos  $\beta$ -D-galactopiranosose e 3,6-anidro-galactopiranosose (GONÇALVES et al., 2005), o que confere propriedades reológicas únicas às carrageninas e consolida sua utilização na indústria alimentícia (CIANCIA; MATULEWICZ; TUVIKENE, 2020)

Dessa forma, as carrageninas são agrupadas de acordo com sua composição estrutural, grau de sulfatação, presença de grupos funcionais e teor de açúcar, resultando em 15 tipos conhecidos. Dentre esses, as variantes K,  $\lambda$  e I se destacam por sua maior relevância industrial. (KOMISARSKA et al., 2024). A figura 2 demonstra a estrutura química dos três tipos relevantes de carrageninas de algas vermelhas.

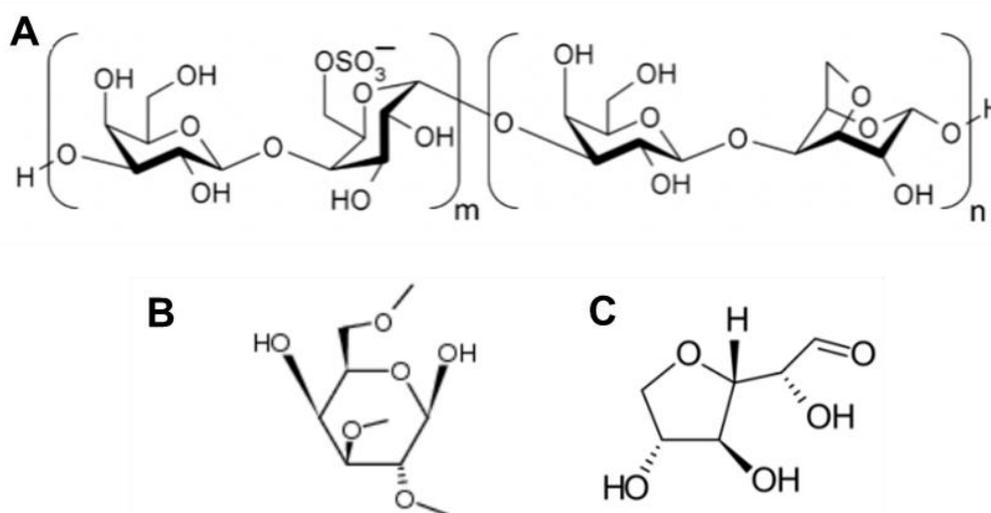


Fonte: Adaptado de JIAO et al., (2011). Organização conformacional dos dissacarídeos  $\beta$ -D-Galactopiranosose e de 3,6-anidro-galactopiranosose presentes nas carrageninas mais relevantes, as quais se diferem a partir da quantidade e da posição dos grupos sulfato.

As agaranas também são classificadas com base em sua conformação estrutural, grau de sulfatação e presença de grupos funcionais. Todavia, diferente das

carrageninas, o peso molecular demonstra-se crucial na classificação das agaranas, devido à alta variação nesse parâmetro, o que influencia suas propriedades biológicas (CHUMSOOK; PRAIBOON; FU, 2023). A composição geral das agaranas inclui uma combinação das unidades de D-galactose, 3,6-anidro-L-galactose, 3,6-anidro-l-galactose sulfatada e outros açúcares como glicose e  $\beta$ -D-xilose (DARKO et al., 2024). O porfirano (figura 3), uma das agaranas mais conhecidos, é composto principalmente por unidades de  $\beta$ -D-galactose e 3,6-anidro-L-galactose, unidas por meio de ligações glicosídicas, formando cadeias polissacarídicas lineares e presença de grupos sulfato em alguns dos resíduos de galactose e ésteres de metila (BAPTISTA et al., 2022).

**Figura 4.** Estrutura química do porfirano.



Fonte: Adaptado de BAPTISTA *et al.* (2020). Estrutura idealizada do porfirano (A), agarano sulfatado composto principalmente por unidades repetitivas de L-galactose-sulfato e D-galactose. Resíduos presentes: Éter metílico (B) e L-galactose anidra (C).

Desse modo, tanto a variabilidade da composição monomérica quanto a conformação tridimensional dos polissacarídeos sulfatados contribuem para suas propriedades únicas e demonstram-se cruciais para interações com biomoléculas específicas, suas funções biológicas e aplicações industriais (MUSCHIN et al., 2012)

### 2.2.2 Métodos de extração

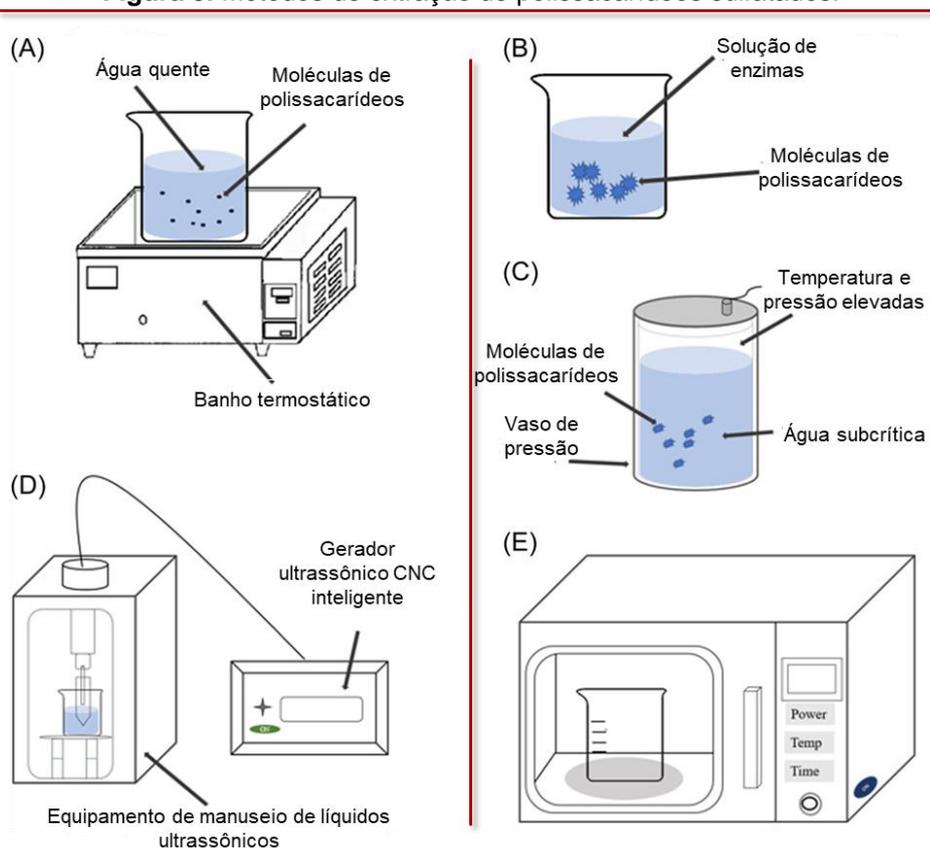
A ampla gama de atividades biológicas que os polissacarídeos sulfatados possuem está estreitamente relacionada à sua conformação estrutural, composição de monossacarídeos, teor de sulfatação, diversidade de grupos funcionais e ao seu peso molecular (SOUSA et al., 2016). Assim, com a finalidade de aumentar a eficiência e rendimento, as seis principais técnicas de extração estão cada vez mais focadas em metodologias otimizadas (Figura 4), para manter a integridade estrutural dos polissacarídeos e suas propriedades biológicas (HAO et al., 2024).

Nessa perspectiva, a extração convencional (HWE) é baseada em uma metodologia mais simples, que envolve a utilização de água destilada em temperaturas específicas, normalmente utilizada entre 60°C a 100°C, e maior tempo de extração (FAROOQ et al., 2022). Desse modo, foi evidenciado que PSs extraídos por este método geralmente têm um peso molecular mais alto, o que pode ser benéfico para a precipitação de glicanos ácidos (LU, 2023). Porém, temperaturas elevadas por tempos prolongados podem danificar a cadeia molecular e causar alterações estruturais nos PSs e conseqüentemente diminuir sua bioatividade (BHOKARIKAR et al., 2024). A extração por precipitação de etanol é outro método simples e econômico, que utiliza diferentes concentrações de etanol para precipitar os polissacarídeos com base em suas características de solubilidade, permitindo a separação de polissacarídeos com diferentes pesos moleculares e propriedades (LONG et al., 2020). Contudo, a técnica requer um controle minucioso das concentrações e temperaturas do etanol para alcançar a pureza e o rendimento desejados dos PSs, condições excessivamente agressivas podem causar desnaturação de biomoléculas sensíveis (DENG et al., 2023).

Por sua vez, a extração assistida por ultrassom (UAE) é uma técnica inovadora, ecologicamente correta e economicamente viável, na qual utiliza ondas ultrassônicas para melhorar a extração de compostos, além de ser ideal para obtenção de polissacarídeos sensíveis ao calor, preservando sua bioatividade (GOSWAMI; DUTTA; KAKATI, 2024). Já na extração assistida por micro-ondas (MAE), a capacidade da radiação de micro-ondas de penetrar e se misturar com o substrato permite um aquecimento preciso e rápido, porém o calor excessivo do MAE pode causar a degradação de polissacarídeos suscetíveis se não for controlado (B, 2024).

Outra metodologia bastante empregada é a extração enzimática (EAE). Esse método proporciona extração seletiva, alto rendimento e trabalha em condições mais amenas em comparação com outros métodos, reduzindo o risco de degradação térmica e preservando a integridade dos polissacarídeos (CHIANG; LAI, 2019). Todavia, a eficácia da EAE varia significativamente com base no tipo de enzima, concentração e condições de extração, levando a rendimentos e propriedades biológicas inconsistentes do extrato (JING et al., 2023). Por último, a extração subcrítica de água (SWE) é uma das mais recentes e baseia-se no uso da água em temperaturas entre  $100^{\circ}\text{C}$  e  $374^{\circ}\text{C}$ , o que permite a extração de alto rendimento de polissacarídeos sem a utilização de solventes orgânicos, sendo uma alternativa mais ecológica aos métodos tradicionais. Entretanto, compostos sensíveis ao calor podem ser degradados, além de demandar equipamentos especializados (WU et al., 2024).

**Figura 5.** Métodos de extração de polissacarídeos sulfatados.



Fonte: Adaptado de XU et al., (2023). Método de extração de polissacarídeos: (A) Extração de polissacarídeos por água quente; (B) Extração de polissacarídeos por enzima; (C) Extração de polissacarídeos por água subcrítica; (D) Extração de polissacarídeos por ultrassom; (E) Extração de polissacarídeos por micro-ondas.

## 2.3 EFEITOS BIOLÓGICOS DOS POLISSACARÍDEOS SULFATADOS

### 2.3.1 Proteção contra desordens digestivas

Os polissacarídeos de algas vermelhas, particularmente de Gracilariales, mostram-se promissores no pré-tratamento e/ou tratamento de desordens digestivas por apresentarem efeitos benéficos no trato gastrointestinal (TGI), incluindo propriedades gastroprotetoras e anti-inflamatórias (QIU et al., 2022). A tabela 1 resume as principais atividades biológicas dos PSs no TGI. Nessa perspectiva, o polissacarídeo extraído de *Gracilaria Lemaneiformis* demonstrou efeito protetor em modelo de colite por sulfato de sódio dextrano (DSS) em camundongos BALB/c, inibindo o encurtamento do colón e a formação de edemas (HAN et al., 2020). Essa atividade pode estar relacionada com a preservação da barreira intestinal, regulação negativa da expressão do fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ) e interleucina 6 (IL-6), ativação dos receptores de ácidos graxos de cadeia curta (SCFA) e regulação da microbiota intestinal (HAN et al., 2021). Por sua vez, o PS de *Gracilaria caudata* também atenuou a inflamação no colón em modelo murino de colite ulcerativa por ácido acético, ao reduzir os escores macroscópicos e microscópicos. Além disso, reduziu a atividade da mieloperoxidase (MPO), o consumo de glutathiona (GSH), a concentração de malondialdeído (MDA), assim como os níveis das citocinas interleucina 1 beta (IL-1 $\beta$ ) e TNF- $\alpha$  (DUTRA et al., 2021). Ainda, foi demonstrado que o PSs de *Gracilaria birdiae* reverteu os danos causados pelo ácido trinitrobenzenossulfônico (TNBS) em modelo de colite por TNBS em ratos, através de mecanismos que envolvem a inibição da infiltração celular, tradução de citocinas e peroxidação lipídica (BRITO et al., 2014).

Outro composto promissor frente a distúrbios digestivos foi o polissacarídeo de *Gracilaria cervicornis*, promovendo efeito antidiarreico ao induzir redução do acúmulo/secreção de líquido, aumento de atividade de Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase no intestino delgado e inibir ação da toxina da cólera (CTX) ou por interagir com receptores de gangliosídeos (GM1) em modelo de diarreia por óleo de rícino ou por CTX (BEZERRA et al., 2018b). Seguindo nesse contexto, também foi demonstrado que o polissacarídeo extraído de *Gracilaria intermedia* causou efeitos antidiarreicos, com

mecanismos semelhantes ao do polissacarídeo de *G. cervicornis*, além de não apresentar sinais de toxicidade aguda nos animais (LEÓDIDO et al., 2017) Ademais, o PSs de *Gracilaria caudata* evitou lesões hemorrágicas na mucosa gástrica e reduziu o estresse oxidativo local na gastropatia por etanol em roedores (SILVA et al., 2011).

**Tabela 1.** Atividades biológicas de polissacarídeos sulfatados no TGI.

<b>Polissacarídeo Sulfatado</b>	<b>Principais Atividades</b>	<b>Metodologia</b>	<b>Referência</b>
<b>Algas Vermelhas</b>			
<b><i>Gracilaria Lemaneiformis</i></b>	↓ migração de neutrófilos ↓ níveis de citocina ↑ da atividade antioxidante	Colite por DSS	HAN <i>et al.</i> , 2021
<b><i>Gracilaria caudata</i></b>	↓ estresse oxidativo	Colite por Ácido Acético	DUTRA <i>et al.</i> , 2021
<b><i>Gracilaria caudata</i></b>	↓ estresse oxidativo	Gastropatia por Etanol	SILVA <i>et al.</i> , 2011
<b><i>Gracilaria birdiae</i></b>	↓ migração de neutrófilos ↓ níveis de citocina ↓ da peroxidação lipídica	Colite por TNBS	BRITO <i>et al.</i> , 2014
<b><i>Gracilaria cervicornis</i></b>	↓ secreção de líquido ↓ de atividade de Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> - ATPase ↓ ação da CTX	Diarreia por óleo de rícino ou por CTX	BEZERRA <i>et al.</i> , 2018
<b><i>Gracilaria intermedia</i></b>	↓ secreção de líquido ↓ de atividade de Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> - ATPase	Diarreia por óleo de rícino ou por CTX	LEÓDIDO <i>et al.</i> , 2017

Legenda: ↑ Aumentado; ↓ Diminuído.

Fonte: Autor (2024).

### 2.3.2 Hepatoprotetor

Estudos prévios demonstraram que PSs de *Gracilaria* sp. exibem potenciais atividades hepatoprotetoras, a partir de mecanismos antioxidantes, regulação do metabolismo lipídico e por mitigar danos ao fígado, tornando-os promissores para o tratamento de doenças hepáticas (LONG et al., 2022; THAKURI et al., 2024). Desse modo, em um modelo de lesão hepática por nimesulida em camundongos, foi visualizado que o polissacarídeo sulfatado de *Gracilaria caudata* modulou a resposta inflamatória no dano hepático (Tabela 2), reduzindo significativamente os níveis de citocinas pró-inflamatórias, TNF- $\alpha$ , e de marcadores de infiltração tecidual, como a MPO, além de restabelecer as funções homeostáticas hepáticas (JÚNIOR et al., 2020). Já, a administração oral dos polissacarídeos de *Alsidium corallinum* foi capaz de mitigar marcadores lipídicos séricos, como o colesterol total, triglicerídeos, lipoproteína de baixa (LDL) e alta densidade (HDL) em ratos com dano hepático por tebuconazol (TBZ), um fungicida causador de danos hepáticos, a partir da peroxidação lipídica, diminuição de atividades das enzimas antioxidantes e liberação de radicais livres. Além de melhorar os níveis de Alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST), o galactano foi capaz de reparar parcialmente lesões histológicas por TBZ exibindo efeito protetor frente a danos no fígado (BEN SAAD et al., 2023). Ademais, camundongos C57BL/6 tratados com o fucoidano de *Fucus serratus*, apresentaram aumento das enzimas antioxidantes hepáticas, como catalase e glutathione peroxidase (GPx), menores níveis séricos de ALT, AST, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 e proteína C reativa (PCR), demonstrando mecanismos anti-inflamatórios e antioxidantes frente a lesão hepática por tioacetamida (TAA), um composto organo-sulfuroso que, quando metabolizado no fígado, é convertido em metabólitos reativos que induzem estresse oxidativo local (TSAI et al., 2021).

**Tabela 2.** Efeito hepatoprotetor de polissacarídeos sulfatados.

Polissacarídeo Sulfatado	Principais Atividades	Metodologia	Referência
<b>Algas Vermelhas</b>			
<i>Gracilaria caudata</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>↓ migração de neutrófilos</li> <li>↓ níveis de citocina</li> <li>↓ estresse oxidativo</li> </ul>	Lesão hepática por nimesulida	JÚNIOR <i>et al.</i> , 2020

<b><i>Alsidium corallinum</i></b>	↓ marcadores lipídicos	Lesão hepática por SAAD <i>et al.</i> , tebuconazol 2023
	↓ marcadores de função hepática	

---

### Algas Marrons

<b><i>Fucus serratus</i></b>	↑ de enzimas antioxidantes	Lesão hepática por TSAI <i>et al.</i> , tioacetamida 2021
	↓ níveis de citocina e PCR	
	↓ marcadores de função hepática	

---

Legenda: ↑ Aumentado; ↓ Diminuído.

Fonte: Autor (2024).

### 2.3.3 Antioxidante

O estresse oxidativo ocorre a partir do acúmulo e propagação de espécies reativas de oxigênio (EROs), como o peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), ânion superóxido e hidroxila ( $\text{OH}^\cdot$ ), e está relacionado ao desenvolvimento de diversas doenças, como alzheimer, câncer e diabetes (MURUGAN et al., 2023). Nesse ponto de vista, a busca de compostos com propriedades antioxidantes cresceu significativamente, e os PSs de algas vermelhas ganham destaque nesse campo por seu potencial farmacoterapêutico, alimentício e cosmeceuticos (CHEN et al., 2023).

Dessa forma, o galactano sulfatado de *Gracilaria chouae*, demonstrou promissora atividade antioxidante devido a sua alta capacidade de transferência de elétrons e sequestro de radicais (Tabela 3). O PS de *G. chouae* sequestrou os radicais 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH),  $\text{OH}^\cdot$  e ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico - ABTS) de maneira dose-dependente (Khan et al., 2019). Em outro trabalho de Khan e colaboradores (2021), foi evidenciado que o PSs de *Gracilaria blodgettii* possui potentes atividades antioxidantes através dos mecanismos anteriormente citados de *G. chouae* (KHAN et al., 2021). O polissacarídeo de *Gracilaria fisheri* mostrou sua capacidade oxidante através do sequestro de radicais do DPPH (IMJONGJAIRAK et al., 2016), assim como, agaranas extraídas da alga vermelha *Gelidium amansii* também foram capazes de neutralizar radicais DPPH (YU et al., 2021).

O DPPH é um gerador de radical livre estável, utilizado para medir a capacidade antioxidante de produtos naturais através do sequestro ou transferência de elétrons (OLIVEIRA, 2015). Por sua vez, o radical ABTS é utilizado para avaliar a atividade antioxidante de compostos com natureza hidrofílica ou lipofílica (RE et al., 1999). Portanto, a combinação de ambas as metodologias é uma rica avaliação da capacidade antioxidante de um composto natural e indica a ampla capacidade de neutralizar diferentes tipos de radicais livres que ele possui. Ademais, PSs de *Gelidium crinale* promoveram efeitos antioxidantes no estresse oxidativo induzido pelo lipopolissacarídeos (LPS) em modelo celular. Esse galactano demonstrou alto potencial em eliminar radicais ABTS, DPPH,  $\text{OH}^\cdot$ , quelar hidróxido ferroso ( $\text{Fe}^{2+}$ ) e inibir a expressão da óxido nítrico sintase induzível (iNOS), ciclooxigenase-2 (COX-2) e produção de citocinas pró-inflamatórias (PEI et al., 2021).

Evidencia-se, portanto, que os PSs podem prevenir a peroxidação lipídica, podendo assumir um papel promissor na prevenção e tratamento de doenças secundárias a essa condição.

Tabela 3. Efeito antioxidante de polissacarídeos sulfatados.

Polissacarídeo Sulfatado	Principais Atividades	Metodologia	Referência
<b>Algas Vermelhas</b>			
<b><i>Gracilaria chouae</i></b>	↓ de radicais DPPH, ABTS e OH <sup>-</sup>	Atividade de eliminação de radicais DPPH, OH <sup>-</sup> e ABTS <i>in vitro</i>	KHAN <i>et al.</i> , 2019
<b><i>Gracilaria blodgettii</i></b>	↓ de radicais DPPH, ABTS e OH <sup>-</sup>	Atividade de eliminação de radicais DPPH, OH <sup>-</sup> e ABTS <i>in vitro</i>	KHAN <i>et al.</i> , 2021
<b><i>Gracilaria fisheri</i></b>	↓ de radicais DPPH	Atividade de eliminação de radicais DPPH <i>in vitro</i>	IMJONGJAIK <i>et al.</i> , 2016
<b><i>Gelidium amansii</i></b>	↓ de radicais DPPH	Atividade de eliminação de radicais DPPH <i>in vitro</i>	YU <i>et al.</i> , 2021
<b><i>Gelidium crinale</i></b>	↓ de radicais DPPH, ABTS e OH <sup>-</sup> ↓ Fe <sup>2+</sup> ↓ expressão de iNOS e COX-2 ↓ de citocinas	Estresse oxidativo por LPS e atividade de eliminação de radicais DPPH, ABTS e OH <sup>-</sup> <i>in vitro</i>	PEI <i>et al.</i> , 2021

Legenda: ↑ Aumentado; ↓ Diminuído.

Fonte: Autor (2024).

## 2.4 AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA DE NOVOS COMPOSTOS

À medida que o composto apresenta potenciais atividades biológicas, diversas experimentações devem ser realizadas com a finalidade de identificar sua segurança terapêutica (GONG et al., 2023; SAMBYAL; SRAVANTHI; SAMPATH, 2022). Desse modo, a avaliação da toxicidade de novos compostos é considerada como etapa pré-clínica crucial ao início do desenvolvimento de medicamentos para afirmar a segurança do composto, reduzir custos e monitorar possíveis efeitos adversos (LEKSHMI; RAUF; MURALEEDHARA, 2019). Esse perfil tóxico está relacionado principalmente a estrutura química do composto (LIU et al., 2023).

Nesse contexto, o método de classe tóxica aguda delineada no guia 423 da Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OCDE/OCDE) foi projetada para avaliar sistematicamente a toxicidade aguda de substâncias químicas via administração oral em modelos animais, preferencialmente roedores como camundongos ou ratos, produzindo resultados empíricos reproduzíveis e consistentes. Além disso, essa metodologia é sustentada por considerações éticas relativas ao bem-estar animal, o que exige uma redução no número de animais experimentais utilizados por grupo ( $n = 3$ ) e o refinamento de protocolos experimentais para aliviar possíveis dores e sofrimentos em roedores. Ainda, os animais devem ser alojados em um ambiente com condições ideais de temperatura e iluminação, com livre acesso a ração e água.

A substância de teste é administrada por gavagem, empregando uma cânula adequada, em animais experimentais em jejum, de mesmo sexo e com idade entre 8 e 12 semanas, utilizando uma das quatro doses pré-definidas estabelecidas pelo guia, as quais são 5, 50, 300 e 2.000 mg/kg de peso corporal. A este respeito, a seleção da dose inicial da substância teste deve ser aquela com maior probabilidade de induzir mortalidade no grupo experimental. No presente estudo, a dose escolhida para a análise tóxica aguda do PS-Gc foi de 2.000 mg/kg, embasada por informações existentes na literatura as quais indicam que a mortalidade é improvável após a administração oral de PSs neste nível máximo de dose inicial (HONG et al., 2017; ISMAIL; ALOTAIBI; EL-SHEEKH, 2020; LEÓDIDO et al., 2017). Posteriormente, os animais devem ser monitorados por um período de 14 dias para avaliar o surgimento de sinais toxicológicos ou casos de mortalidade. Dessa forma, os dados obtidos sobre

a toxicidade aguda da substância em estudo são considerados suficientemente robustos para permitir sua classificação como composto seguro ou potencialmente tóxico.

## 2.5 POLISSACARÍDEO SULFATADO DE *GRACILARIA CUNEATA*

Os estudos acerca da alga vermelha *Gracilaria cuneata*, distribuída ao longo da costa brasileira, em geral, abordam a sua taxonomia, distribuição geográfica e importância ecológica. Nesse contexto, em um estudo feito por Lyra e colaboradores (2011), a *G. cuneata* foi a 2<sup>o</sup> espécie de *Gracilaria* sp. mais frequente entre 284 espécimes coletados. A pesquisa analisou a distribuição espacial, temporal e a abundância de cada espécie do gênero *Gracilaria* na praia de Stella Maris, Salvador, Bahia, em três micro habitats de diferente hidrodinamismo e em diferentes períodos de coleta. Foi visualizado que a alta frequência de *G. cuneata* não teve variações ao longo do protocolo e não apresentou diferença significativa quanto a distribuição nos micro habitats. Além disso, foi demonstrado que o padrão reprodutivo de *G. cuneata* diverge das demais espécies do estudo, ao apresentar maior abundância de gametófitos férteis no período frio, revelando uma tendência adaptativa desta espécie (LYRA et al., 2011).

Corroborando com esse estudo, foi documentado que *G. cuneata* reside em manguezal hipersalino da costa norte do estado do Rio Grande do Norte, Nordeste do Brasil. Queiroz & colaboradores (2014) coletaram espécimes de *G. cuneata* em diferentes épocas do ano e visualizaram que *G. cuneata* prevalece nas estações quentes e secas, mais uma vez apresentando perfil adaptativo frente a condições diversas. Ademais, a macroalga funciona como micro-habitat para refúgio, alimentação e reprodução de mais de mil espécies de moluscos de pequeno porte durante as variações climáticas, demonstrando sua importância ecológica (QUEIROZ; DIAS, 2014). Contudo, mesmo que *G. cuneata* apresente esse potente perfil adaptativo frente a diversas condições ambientais, assim como uma rica composição estrutural, ela continua invisibilizada, possuindo informações limitantes acerca de suas propriedades biológicas.

Na atual conjuntura, as macroalgas de *Gracilaria* sp. e seus PSs possuem grande renome no campo das ciências biomédicas e da farmacologia (LOMARTIRE; GONÇALVES, 2023). Entretanto, apesar das evidências sobre os efeitos positivos e do baixo índice de toxicidade relacionadas aos PSs do gênero *Gracilaria*, estudos acerca da toxicidade pré-clínica do polissacarídeo sulfatado extraído da alga *G. cuneata* (PS-Gc), assim como suas atividades terapêuticas ainda são escassos na

literatura. Logo, é evidente a importância da avaliação da toxicidade aguda do PS-Gc para dar continuidade nos estudos que visem explorar as propriedades biológicas inerentes ao gênero *Gracilaria* e contribuir positivamente no campo das ciências biomédicas.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

- Avaliar a toxicidade aguda do polissacarídeo sulfatado extraído da alga marinha *Gracilaria cuneata* (PS-Gc) em camundongos.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar o peso corporal (g) e o comportamento geral dos animais – *screening* hipocrático nos animais tratados com o PS-Gc;
- Analisar macroscopicamente os órgãos de animais submetidos ao tratamento agudo com o PS-Gc;
- Determinar os níveis de marcadores bioquímicos de função renal e hepática dos animais submetidos ao tratamento agudo com o PS-Gc;
- Investigar as alterações histológicas dos órgãos de animais submetidos ao tratamento agudo com o PS-Gc.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 EXTRAÇÃO DO POLISSACARÍDEO DE *GRACILARIA CUNEATA*

Espécimes da alga vermelha *G. cuneata* foram coletados na Praia da Flexeiras (3°13'11.0"S 39°16'21.5"W), Trairi-Ceará, costa atlântica do nordeste do Brasil. Após a coleta, as algas foram limpas, lavadas com água destilada e armazenadas a -20°C. Para a extração dos polissacarídeos, 5 g de tecido seco de *G. cuneata* foram moídos até formar um pó fino e agitados por 2 horas em água destilada (1,5% p/v) a 100°C. Após filtração e concentração da solução, os polissacarídeos foram precipitados com etanol (1:3 v/v) e o precipitado foi lavado com acetona e seco sob ar quente. A fração polissacarídica foi redissolvida em água destilada (1,5% p/v) e o processo de precipitação, lavagem e secagem foi repetido, conforme descrito anteriormente (CHAVES et al., 2013).

### 4.2 ANIMAIS

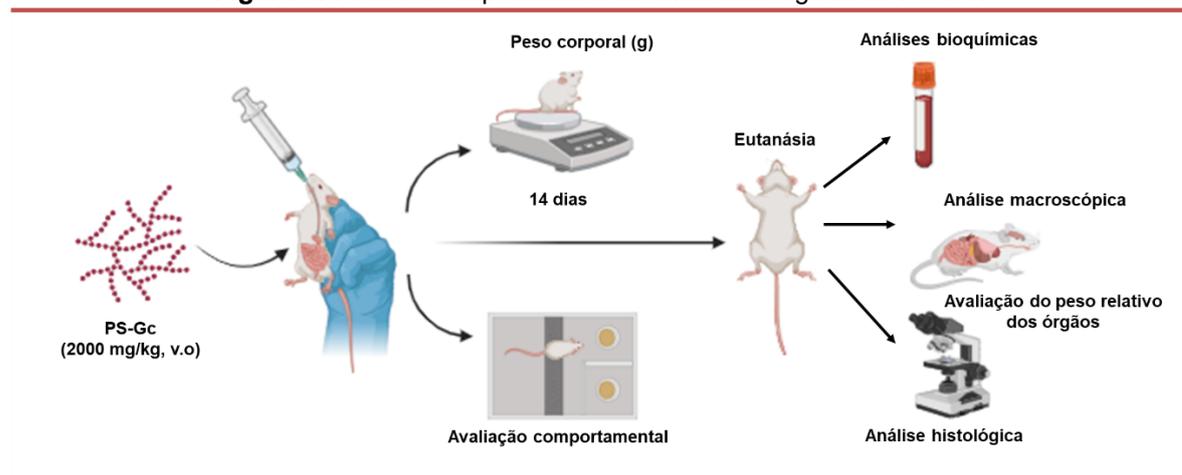
Camundongos Balb/c fêmeas (25–30 g; 8 semanas de idade) foram obtidos do Biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da UFPE, campus Recife-PE. Os camundongos foram mantidos em sala apropriada com temperatura controlada (22°C ± 2°C), em ciclo de claro/escuro de 12 horas, com livre acesso à ração e água. O protocolo experimental foi realizado através das normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e com aprovação prévia do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE (Protocolo No. 38/2021).

### 4.3 PROTOCOLO EXPERIMENTAL

Os animais foram divididos de forma randomizada em 2 grupos (n=3), seguindo as diretrizes presentes no guia da Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OCDE) (OECD/OCDE, 2001). No grupo tratado, foi administrado o polissacarídeo sulfatado extraído da alga *G. cuneata* (2000 mg/kg, v.o.), enquanto o grupo controle recebeu apenas solução salina. A administração das substâncias foi realizada uma única vez (dia 1), e os animais foram monitorados por

14 dias, para registro do peso corporal e avaliação do comportamento geral (*screening* hipocrático). Após a eutanásia, o sangue foi coletado para realização de análises bioquímicas e os órgãos coração, baço, rins, fígado e pulmões foram retirados, fotografados, pesados e coletados para análise histológica (Figura 5).

**Figura 6.** Protocolo experimental de toxicidade aguda do PS-Gc.



Fonte: Autor (2024). Os animais receberam PS-Gc (2000 mg/kg, v.o.) e, após 14 dias, o sangue foi coletado para análises bioquímicas, os órgãos foram removidos, fotografados e pesados. Além disso, amostras foram coletadas para análise histológica. Created in BioRender.com.

#### 4.4 AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL GERAL – SCREENING HIPOCRÁTICO

Na avaliação comportamental geral, foi utilizado o modelo de *screening* hipocrático acima citado (MALONE; ROBICHAUD, 1962). A partir disso, o peso corporal dos animais (g), bem como a avaliação do comportamento geral, foi registrado no 1º e 14º dia do protocolo. Nesse período, os parâmetros avaliados foram a atividade motora, irritabilidade, resposta ao toque, contorção, endireitamento, cianose, tônus corporal, força de agarrar, ataxia, reflexo corneal, tremores, convulsões, cauda de Straub, hipnose, anestesia, lacrimação, ptose, micção, defecação, piloereção, respiração, frêmito vocal e número de mortalidade.

#### 4.5 ANÁLISE MACROSCÓPICA E PESO RELATIVO DOS ÓRGÃOS

Após a eutanásia, coração, baço, rins, fígado e pulmões de cada animal foram removidos, fotografados, pesados e avaliados macroscopicamente por dois

avaliadores sem conhecimento dos grupos. A obtenção do peso relativo de cada órgão foi determinada pela seguinte fórmula:

$$\text{Peso relativo (g)} = \left( \frac{\text{peso real do órgão (g)}}{\text{peso corporal do animal (g)}} \right) \times 25$$

Os resultados foram expressos em gramas por 25 gramas de peso corporal (g/25g).

#### 4.6 ANÁLISES BIOQUÍMICAS

No final do protocolo, os animais foram anestesiados com cetamina (80 mg/kg) + xilazina (8 mg/kg) por via intraperitoneal e o sangue foi coletado por punção cardíaca e adicionados em tubos contendo EDTA para a avaliação bioquímica. O sangue centrifugado à 3500 rpm por 10 minutos foi utilizado para avaliação dos níveis de glicose, ureia, creatinina, aspartato aminotransferase (AST) ou alanina aminotransferase (ALT), albumina e proteínas totais. Essas análises foram realizadas de forma manual conforme o protocolo estabelecido pelo fabricante dos testes (Labtest, São Paulo, Brasil).

#### 4.7 ANÁLISE HISTOLÓGICA

Após a remoção, os órgãos foram fixados em formaldeído a 10% por 24h e posteriormente serão transferidos para o álcool à 70%. O material foi submetido a um processador automático de tecidos e incluído na parafina. Os blocos de parafina foram seccionados em 4 µm de espessura e colocados em lâminas histológicas para coloração com hematoxilina e eosina (H&E) para análise qualitativa dos fragmentos. As lâminas foram analisadas por um avaliador sem conhecimento prévio dos grupos experimentais por microscopia óptica (aumento 400X).

#### 4.8 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados foram apresentados como a média  $\pm$  erro padrão da média (EPM). Os testes estatísticos foram realizados no software Graphpad Prism (versão 5.0). A significância estatística das diferenças entre os grupos foi determinada através do teste t de Student. As diferenças estatísticas são apenas consideradas significativas quando  $p < 0,05$ .

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

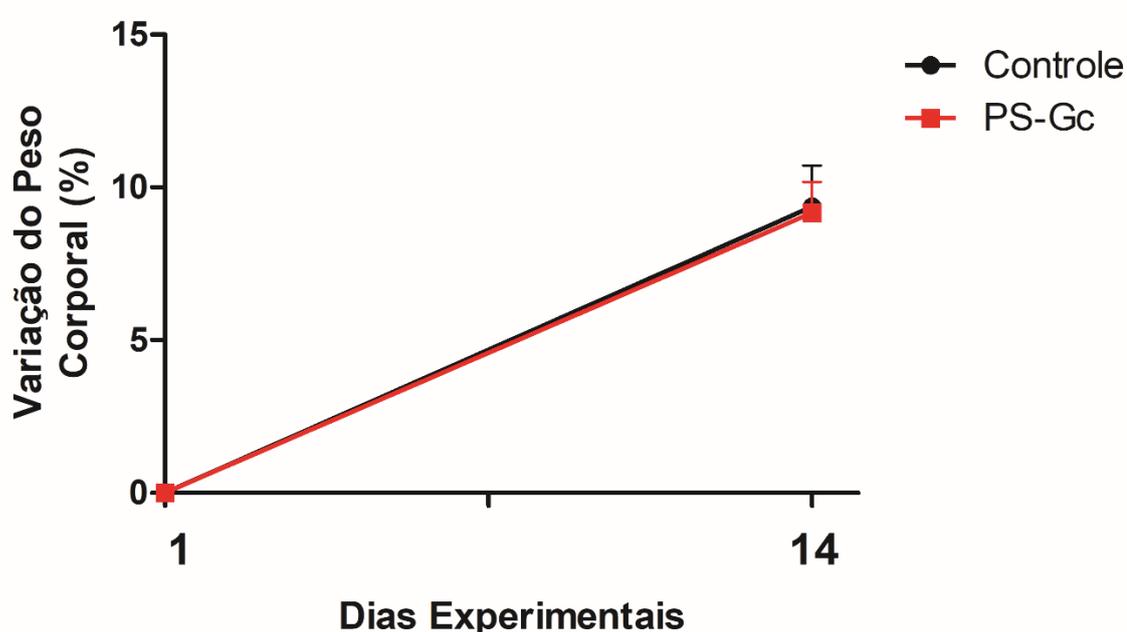
A presente avaliação de toxicidade aguda demonstrou segurança terapêutica do polissacarídeo sulfatado de *Gracilaria cuneata* (PS-Gc) na dose oral de 2000 mg/kg em camundongos. Os resultados demonstraram que o PS-Gc não apresentou diferença estatística no ganho de peso dos animais tratados quando comparados ao grupo controle. Além disso, o comportamento geral dos animais, bem como seus parâmetros fisiológicos vitais, fora preservado (Tabela 4). Ademais, a ausência de lesões na arquitetura macroscópica dos principais órgãos envolvidos no metabolismo de compostos indica a segurança terapêutica do PS-Gc, assim como a ausência de alterações microscópicas na avaliação histopatológica destes órgãos reforçam essa hipótese. Por conseguinte, o resultado das análises bioquímicas corrobora com esses achados ao visualizar a preservação dos principais marcadores de função, os quais foram dosados no último dia do protocolo experimental, sugerindo que a administração oral do PS-Gc é livre de efeitos toxicológicos iniciais.

A avaliação da toxicidade aguda de um novo composto é o primeiro passo para garantir a segurança e eficácia de substâncias com potencial farmacológico e terapêutico, tendo em vista que as análises de toxicidade pré-clínica visam antecipar os riscos e reduzir a probabilidade de um novo fármaco interferir no metabolismo celular e ocasionar malefícios à saúde (SILVA et al., 2021). Assim, a metodologia abordada no guia 423 da OECD/OCDE tem como objetivo avaliar a toxicidade oral aguda da substância, sendo utilizado para determinar a dose letal mediana (LD50) e classificá-la de acordo com a ausência ou presença de toxicidade. Além disso, foi desenvolvida para alinhar-se com os princípios éticos de bem-estar animal, reduzindo o número de animais (n=3) quando comparado aos métodos tradicionais. No geral, o método baseia em administrar uma dose fixa e pré-definida do composto teste em roedores do mesmo sexo. A dose inicial precisa ser aquela mais provável de causar mortalidade nos animais testados, sendo aqui utilizada a dose de 2000 mg/kg do PS-Gc. A partir disso, os animais são monitorados por 14 dias para avaliação dos principais critérios toxicológicos, os quais são comportamento anormal, perda de peso e mortalidade, permitindo uma avaliação rápida, eficaz e reprodutível da toxicidade (DENNY, 2024).

Dessa forma, o presente estudo demonstrou que o PS-Gc não interferiu no

ganho de peso/massa corporal dos animais. Após os 14 dias experimentais, o grupo tratado com PS-Gc apresentou um ganho de massa corporal médio de 9,1%, enquanto o ganho médio do grupo controle foi de 9,3%, não apresentando diferença significativa entre os grupos (Figura 6). A preservação deste parâmetro é de suma importância, considerando que a diminuição no consumo de alimentos e diminuição do peso corporal são observados em roedores após administração experimental de polissacarídeos com potencial tóxico (YIRMIYA, 1996).

**Figura 7.** Variação do peso corporal de animais tratados com PS-Gc.



Fonte: Autor (2024). O peso dos animais foi avaliado nos dias 1 e 14 do protocolo experimental. Os resultados estão expressos como a média  $\pm$  EPM.

Além disso, foi demonstrado que mudanças significativas no peso causam padrões de comportamentos alterados em camundongos, resultando, por exemplo, em letargia e diminuição dos níveis de atividade social e memória (BRAGA et al., 2021; MORT et al., 2023). Dessa forma, a preservação desse parâmetro, indica que o PS-Gc não interfere no desenvolvimento normal dos animais, permitindo assim que eles permaneçam ativos e engajados em seu ambiente.

Nesse contexto, a avaliação do comportamento geral demonstrou resultados promissores e complementares, tendo em vista que o PS-Gc não alterou a atividade motora, frequência respiratória e não causou mortalidade nos camundongos tratados com a dose oral de 2000 mg/kg. Os parâmetros comportamentais avaliados a partir

do modelo de *Screening* Hipocrático, assim como seus resultados, estão resumidos na Tabela 4.

**Tabela 4.** *Screening* hipocrático de animais tratados com PS-Gc.

<b>Parâmetros</b>	<b>Controle</b>	<b>PS-Gc</b>
Atividade motora	N	N
Irritabilidade	E	E
Resposta ao toque	N	N
Aperto de cauda	N	N
Contorção	N. E.	N. E.
Endireitamento	N	N
Cianose	N.E.	N.E.
Tônus corporal	N	N
Força de agarrar	N	N
Ataxia	N.E.	N.E.
Reflexo corneal	N	N
Tremores	N.E.	N.E.
Convulsões	N.E.	N.E.
Cauda de Straub	N.E.	N.E.
Hipnose	N.E.	N.E.
Anestesia	N.E.	N.E.
Lacrimação	N.E.	N.E.
Ptose	N.E.	N.E.
Micção	N	N
Defecação	N	N
Piloereção	E	E
Respiração	N	N
Nº de mortes	0	0

Legenda: Normal, N; Encontrado, E; Não Encontrado, NE.  
Fonte: Autor (2024).

O grupo tratado com PS-Gc não demonstrou sinais e sintomas de toxicidade durante os 14 dias do protocolo experimental, apresentando comportamento

semelhante aos animais do grupo controle. O PS-Gc não afetou a atividade geral e estado de consciência dos animais, assim como não alterou a coordenação motora e reflexos, preservando a resposta ao toque, reflexo corneal, endireitamento, força de agarrar, assim como também não afetou funções fisiológicas vitais, como a frequência respiratória. Assim, a preservação desses parâmetros somado a ausência de mortalidade no período experimental sugere que a dose administrada do PS-Gc é livre de efeitos toxicológicos agudos (KANJANAPOTHI, 2004).

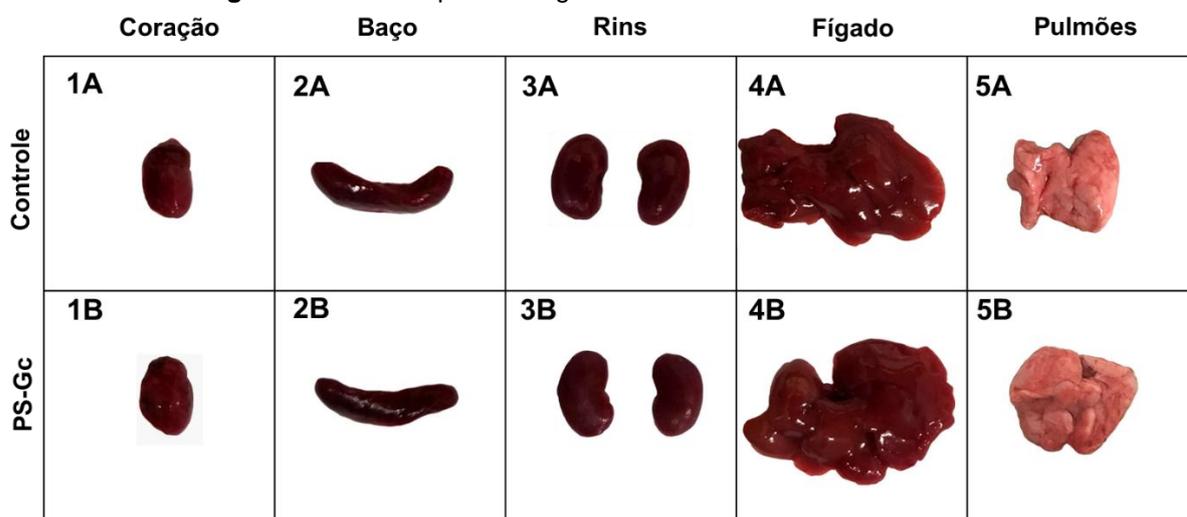
Além disso, não foram visualizados sinais de sofrimento nos camundongos, os quais demonstraram engajamento e interação com seu ambiente. De acordo com a literatura, a ausência desses sinais em ambos os grupos fora influenciada pelo curto tempo de duração do protocolo e por utilização de técnicas de manejo que visam o bem-estar animal, o qual é essencial para criar um ambiente de avaliação próximo ao ideal, otimizando a análise comportamental (MAHO et al., 1992; SQUAIR et al., 2023). Nesse sentido, a triagem a partir do modelo de *screening* hipocrático é fundamental para detectar atividades farmacológicas e toxicológicas de novos compostos, tendo em vista que se baseia em monitorar o estado consciente, coordenação do sistema locomotor, parâmetros do sistema nervoso central (SNC) e do sistema nervoso autônomo (SNA) dos animais (LUCIO et al., 2000) Dessa forma, a ausência de sinais e sintomas previstos após administrações de compostos potencialmente tóxicos, sugere segurança terapêutica na administração oral do PS-Gc (CARVALHO et al., 2015).

Outro parâmetro toxicológico avaliado foi o efeito do PS-Gc na arquitetura macroscópica dos órgãos. O grupo tratado, quando comparado ao grupo controle, não apresentou diferenças quanto à coloração e forma anatômica dos principais órgãos, assim como não foram visualizadas lesões em ambos os grupos (Figura 7). Isso sugere que o PS-Gc não induz efeitos nocivos em órgãos vitais, alinhando-se com estudos anteriores sobre os perfis de segurança de polissacarídeos sulfatados (KRISHNA et al., 2022), tendo em vista que alterações no tamanho e coloração em órgãos estão relacionadas a intoxicação grave (ABDELHEDI et al., 2024; ABAL et al., 2019).

Corroborando com esses achados, foi observado que o grupo tratado com o PS-Gc na dose de 2000 mg/kg não apresentou diferença significativa no peso relativo dos órgãos avaliados, comparado ao grupo controle (Figura 8). As variações no peso

individual dos órgãos resultam a partir de injúrias teciduais, o qual ocasiona o aumento do tamanho do órgão, por congestão e edema, ou culmina na redução do tamanho do órgão, por necrose e atrofia (ZHANG et al., 2020). Dessa forma, esses efeitos nocivos são explicados por diversos mecanismos de ação subjacentes de compostos tóxicos, como alterações no metabolismo celular, respostas inflamatórias e estresse oxidativo, os quais estão interconectados e podem impactar significativamente a função e a recuperação dos órgãos (CHAUDRY; BLAND, 2009; SIMON; SOUZA-SMITH; MOLINA, 2022).

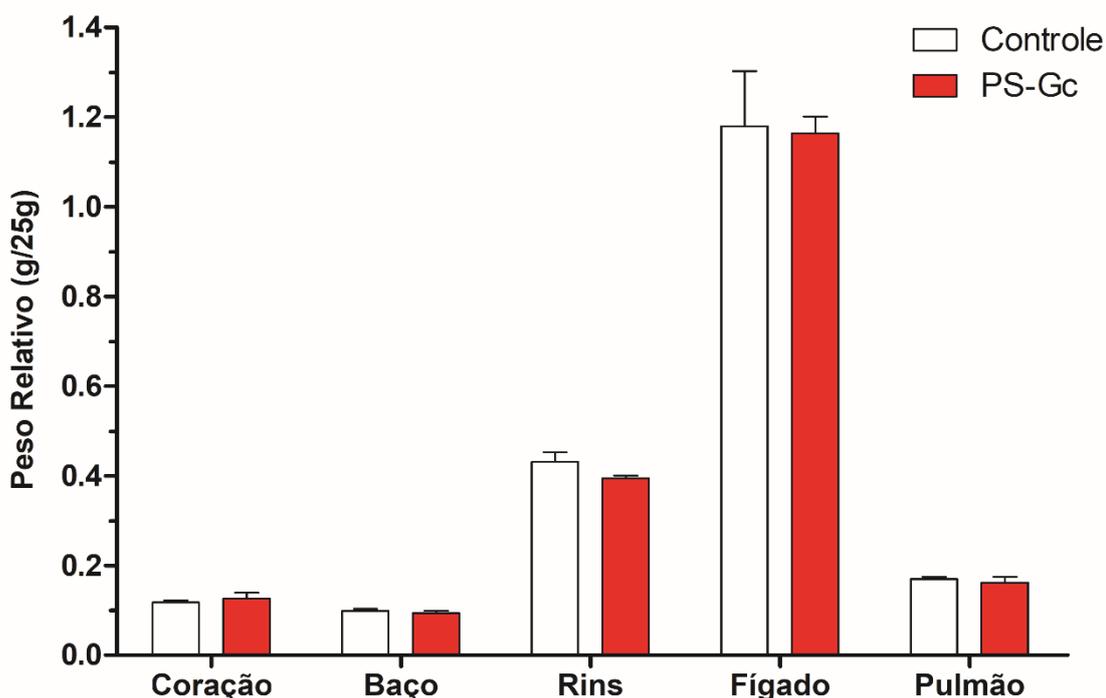
**Figura 8.** Macroscopia dos órgãos de animais tratados com PS-Gc.



Fonte: Autor (2024). A avaliação macroscópica dos órgãos foi realizada no grupo controle (1A-5A) e no grupo tratado com o PS-Gc (1B-5B).

A análise do peso relativo serve como um indicador sensível de danos causados nos órgãos, sendo critério essencial à investigação de um novo composto (LIQUORI et al., 2007; TAMURA, 2018). Dessa forma, a partir de medições precisas, essa equação fornece informações valiosas sobre a segurança e eficácia dos PSs (SCHAFER, 2007; SELLERS et al., 2007). Além disso, a preservação do peso relativo dos órgãos sugere que a integridade estrutural e funcional desses órgãos fora invulnerada, pois implica que os PSs não interferem nos processos fisiológicos normais no organismo. Sendo assim, esse achado se alinha a padrões de segurança de polissacarídeos sulfatados e sugere que o PS-Gc não induz estresse ou danos teciduais nos órgãos analisados (WANG et al., 2020; XU et al., 2022).

**Figura 9.** Peso relativo dos órgãos de animais tratados com PS-Gc.



Fonte: Autor (2024). O peso relativo dos órgãos foi calculado em gramas por 25 gramas de peso corporal (g/25g). Os resultados são expressos como a média  $\pm$  EPM (n=3).

Ademais, foram dosados marcadores bioquímicos com a finalidade de investigar se o PS-Gc possui efeitos prejudiciais no perfil glicêmico e no fígado e nos rins, os principais órgãos envolvidos na metabolização e excreção de compostos (CHOTHE et al., 2023; OBACH; ISOHERRANEN, 2022). Essa investigação fornece informações mais assertivas e precisas sobre a complexa interação entre a farmacocinética e potencial toxicidade do composto testado (SODRÉ; COSTA; LIMA, 2007; TAMBER et al., 2023). Nesse sentido, foi visualizado que o PS-Gc não apresentou diferença significativa na dosagem de glicose sérica assim como dos biomarcadores de função renal e hepática, quando comparados ao grupo controle, permanecendo em níveis fisiológicos (Tabela 5).

A glicose é um marcador importante na avaliação do estado metabólico e toxicidade aguda no organismo dos camundongos, pois níveis anormais de glicose podem indicar efeito tóxico em órgãos essenciais para regulação da glicemia, como fígado e pâncreas (ESHETU, 2016; LEVINE et al., 1980). Nesse sentido, os níveis séricos de glicose dos camundongos tratados com PS-Gc não apresentaram diferença significativa, quando comparados ao grupo controle, sugerindo que o PS-Gc não afetou a glicemia.

Por sua vez, os biomarcadores de função renal, dosados na urina e/ou soro, são cada vez mais utilizados com a finalidade de estimar a gravidade e a natureza da lesão renal (HUIDOBRO; TAGLE; GUZMÁN, 2018). Nesse contexto, injúrias renais comumente são induzidos por mecanismos lesivos de agentes tóxicos e resultam em lesão renal aguda (LRA), uma síndrome caracterizada pela perda da função excretora do rim, no qual geralmente resulta em elevações nos níveis séricos de ureia e creatinina acima do limite esperado desses biomarcadores (TABOSA et al., 2020; KRSTIC et al., 2016). Assim, o presente estudo demonstrou que a administração em dose oral do PS-Gc não apresentou diferença significativa nos níveis séricos de creatinina e ureia, quando comparados aos níveis dos marcadores no grupo controle. A ureia e a creatinina são biomarcadores de escolha para avaliar a função renal e seus níveis séricos refletem de forma precisa a taxa de filtração glomerular (TFG), auxiliando na detecção de injúrias renais, especialmente na lesão renal aguda induzida por toxicidade (LALLA; PATHAN; JAWADE, 2020; SANKEERTHI et al., 2022). Dessa forma, esses resultados sinalizam que o PS-Gc não causou danos a nível renal, tendo em vista que os níveis séricos de ureia e creatinina permaneceram em doses homeostáticas (Tabela 5) e não houve algum indício de redução na função excretora (Tabela 4) durante o período experimental, como observados após administração de compostos nocivos (BELLOMO; KELLUM; RONCO, 2012).

Ademais, o fígado é uma órgão complexo e responsável por diversas funções, como metabolismo de macronutrientes, fármacos e compostos diversos, síntese de proteínas e de enzimas digestivas (TREFTS; GANNON; WASSERMAN, 2017; MAHMOOD; HACKL, 2024). A avaliação da função hepática normalmente ocorre por dosagem bioquímicas de biomarcadores hepáticos, como a albumina, alanina amino transferase (ALT), aspartato amino transferase (AST) e fosfatase alcalina (ALP) (ILUZ-FREUNDLICH et al., 2020). A partir disso, foi demonstrado que os animais tratados com PS-Gc não apresentaram diferenças significativas nos marcadores de função hepática, quando comparados ao grupo controle. Os níveis séricos dos principais marcadores da função hepática de ambos os grupos estão apresentados na Tabela 5. Dessa forma, a manutenção dos níveis normais dos marcadores hepáticos sugere a ausência de lesões agudas e afasta indícios de toxicidade do PS-Gc, levando em consideração que a metabolização de compostos

tóxicos nos hepatócitos culmina em elevações nas transaminases, diminuição na síntese de albumina e alterações na arquitetura hepatocelular (Ribeiro et al., 2019).

**Tabela 5.** Marcadores bioquímicos de função renal e hepática de animais tratados com o PS-Gc.

<b>Parâmetro</b>	<b>Controle</b>	<b>PS-Gc (2000 mg/kg)</b>
Albumina (g/dL)	2.37 ± 0.11	2.35 ± 0.19
Glicose (mg/dL)	109.3 ± 14.21	140.2 ± 16.95
ALT (U/L)	42.48 ± 3.60	43.66 ± 1.55
AST (U/L)	83.34 ± 4.04	85.52 ± 1.49
Fosfatase Alcalina (U/L)	50.42 ± 7.24	49.73 ± 3.11
Ureia (mg/dL)	69.95 ± 3.12	51.09 ± 1.10
Creatinina (mg/dL)	0.30 ± 0.008	0.29 ± 0.012

Legenda: Valores estão expressos como média ± EPM.

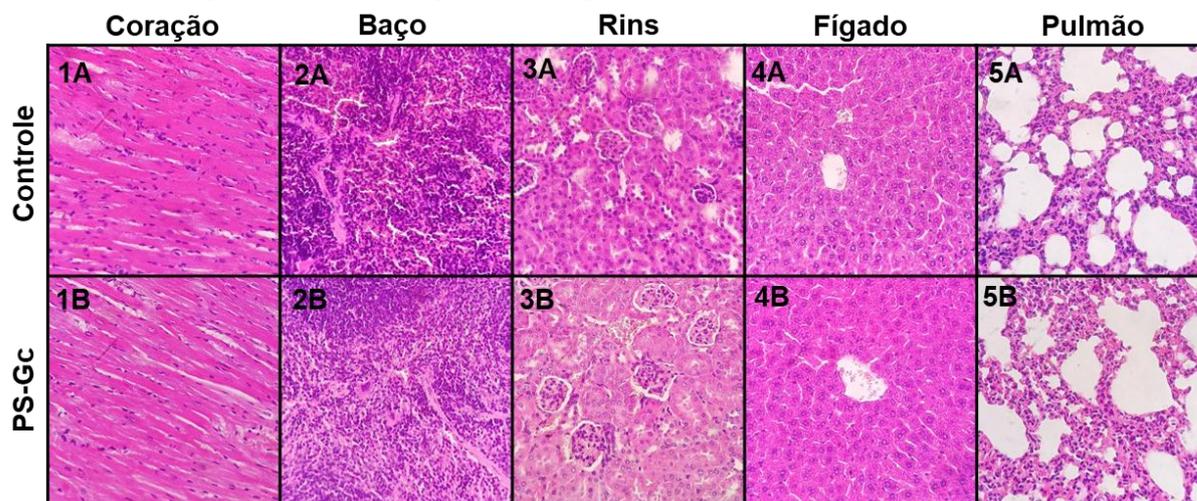
Fonte: Autor (2024).

Ainda, foi evidenciado que o PS-Gc não causou alterações histopatológicas nos órgãos dos animais submetidos ao tratamento agudo, mantendo os padrões histológicos visualizados no grupo controle (Figura 9). De acordo com os fundamentos básicos da toxicologia, após a absorção do composto nocivo, ele passa por mais três etapas, as quais são distribuição, metabolização e excreção, sendo essas duas últimas etapas realizadas pelo fígado e rins, respectivamente (MAXWELL, 2020). Dessa forma, o efeito lesivo no órgão-alvo vai depender de fatores como composição química do composto, tempo de exposição e dosagem (GUPTA, 2020; ORTEGA-VALLBONA et al., 2024).

A metabolização de compostos nos hepatócitos envolve um processo orquestrado por enzimas presentes no fígado, principalmente as do citocromo P450. Assim, quando o composto chega no tecido hepático, ele pode ser biotransformado por oxidação, redução, hidrólise, hidratação, conjugação e condensação, com a finalidade de facilitar sua excreção (KING, 2022; MAHAJAN; PALKAR; PINGILI, 2024; WANG et al., 2022). No contexto de metabolização de xenobióticos, os efeitos tóxicos ocorrem principalmente quando a perturbação bioquímica induzida excede a capacidade de biotransformação e reparo tecidual hepático (CHEN, 2024), o que culmina na necrose e inflamação local (TANG, 2007). No presente estudo, foi visualizado que a amostra histológica do fígado dos animais tratados com PS-Gc

mostrou células hepáticas normais com relação núcleo/citoplasma mantida, ausência de infiltrado inflamatório e vasos sanguíneos preservados, exibindo padrões semelhantes aos de animais controle (Figura 9).

**Figura 10.** Fotomicrografia dos órgãos de animais tratados com PS-Gc.



Fonte: Autor (2024). A avaliação histológica dos órgãos foi realizada no grupo controle (1A-5A) e no grupo tratado com o PS-Gc (1B-5B).

Por sua vez, os rins são fundamentais na homeostase porque, além de produzir hormônios como a eritropoetina e participar na ativação da vitamina D, funcionam como a principal porta de saída de metabolitos tóxicos advindos do fígado (FORTNUM, 2024; MINERS et al., 2017). Nessa perspectiva, a disfunção renal está associada com diversos quadros clínicos patológicos devido a perfis farmacocinéticos distintos e a menor excreção de substâncias, em comparação a pacientes com função renal íntegra (ARAKAWA; KATO, 2023). Além disso, os nefros são altamente sensíveis a exposição de compostos tóxicos, os quais podem culminar em danos diretos às células epiteliais que revestem a unidade funcional do órgão, resultando em morte celular, inflamação e fibrose (SANDS; VERLANDER, 2018). Dessa forma, a administração do PS-Gc na dose de 2000 mg/kg demonstrou resultados promissores ao manter a integridade estrutural dos glomérulos e por não apresentar alterações patológicas nas células renais, como presença de degeneração e necrose tubular ou hemorragia, insinuando mais uma vez que o PS-Gc não apresentou danos a nível microscópico (TRAN; TRAN, 2021).

Ainda, a toxicidade aguda pode impactar significativamente a arquitetura pulmonar e cardíaca, levando a várias alterações patológicas. A literatura evidencia

que a exposição a substâncias tóxicas resulta em graves danos a esses órgãos, como foi demonstrado que a exposição aguda e subaguda à xenobióticos ocasionou alterações histopatológicas no tecido cardíaco de roedores, como degeneração das fibras miocárdicas, necrose miocárdica e hidropisia intersticial (WANG et al., 2019). Enquanto os efeitos no sistema respiratório consistem em congestão pulmonar, hemorragia e infiltração de células inflamatórias no interstício e alvéolos (DEAN et al., 1987; MOUSA et al., 2021). Nesse ponto de vista, foi demonstrado que o PS-Gc preservou a arquitetura do sistema cardiorespiratório ao evidenciar células cardíacas normais, ausência de necrose, hemorragia e alvéolos pulmonares íntegros. Da mesma maneira, o PS-Gc não afetou a arquitetura esplênica dos camundongos, onde as células do baço mantiveram morfologia semelhante as do grupo controle. Evidencia-se, portanto, que o PS-Gc não apresentou indícios de toxicidade nos órgãos dos animais.

Em síntese, a presente análise toxicológica do PS-Gc demonstrou que a macromolécula não apresenta indícios de toxicidade oral aguda em camundongos. Assim, é de suma importância a investigação mais aprofundada do PS-Gc em outros modelos toxicológicos, como o subagudo, subcrônico e crônico. Deste modo, a OCDE disponibiliza os guias 407, 408 e 452, respectivamente, onde fornece os métodos para a realização dos estudos de toxicidade a longo prazo, com a finalidade de fortalecer a segurança terapêutica de novos compostos. Por fim, os resultados aqui apresentados servem como suporte e contribuição para futuras investigações acerca da toxicidade e potencial terapêutico do polissacarídeo sulfatado de *G. cuneata*.

## 6 CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou que o polissacarídeo sulfatado extraído da alga marinha de *G. cuneata* não demonstrou indícios de toxicidade aguda em camundongos na dose oral de 2000 mg/kg, sugerindo segurança terapêutica (Figura 10). Os resultados obtidos a partir da variação de peso corporal e da avaliação comportamental revelaram que o PS-Gc não interferiu no ganho de massa, nos padrões comportamentais normais e em parâmetros fisiológicos dos camundongos. Ademais, a análise macroscópica demonstrou que o PS-Gc não causou alterações na morfologia e no peso relativo dos órgãos dos animais. Por fim, o PS-Gc não causou lesões histológicas agudas nos principais órgãos, parâmetro confirmado a partir dos principais marcadores bioquímicos e dos resultados da análise histopatológica. Embora os resultados sejam promissores, é essencial considerar que os possíveis efeitos e mecanismos de ação à longo prazo do PS-Gc no metabolismo e na saúde geral nos camundongos ainda precisam ser totalmente elucidados. Portanto, o presente estudo contribuiu para demonstrar a segurança terapêutica aguda do PS-Gc e contribuirá para a sua implementação em modelos murinos experimentais, a fim de explorar potenciais aplicações biomédicas.

**Figura 11.** Resumo ilustrativo da avaliação toxicológica do PS-Gc.



Fonte: Autor (2024). Os resultados da presente avaliação demonstram a segurança terapêutica aguda do polissacarídeo sulfatado de *Gracilaria cuneata*, contribuindo para suas potenciais aplicações biomédicas. Created in BioRender.com.

## REFERÊNCIAS

ABAL, P. et al. Acute Toxicity Assessment: Macroscopic and Ultrastructural Effects in Mice Treated with Oral Tetrodotoxin. **Toxins**, v. 11, n. 6, p. 305, 29 maio 2019.

ABDELHEDI, O. et al. Sulfated polysaccharides from the viscera of *Mustelus shark*: Characterization and antioxidant, anticoagulant and anti-proliferative activities. **Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre**, v. 31, p. 100399, maio 2024.

ARAKAWA, H.; KATO, Y. Emerging Roles of Uremic Toxins and Inflammatory Cytokines in the Alteration of Hepatic Drug Disposition in Patients with Kidney Dysfunction. **Drug Metabolism and Disposition**, v. 51, n. 9, p. 1127–1135, set. 2023.

AZIZ, E. et al. **An overview on red algae bioactive compounds and their pharmaceutical applications.** **Journal of Complementary and Integrative Medicine** De Gruyter Open Ltd, , 1 dez. 2021.

B, D. T. A Review: Microwave Assisted Extraction. **INTERNATIONAL JOURNAL OF SCIENTIFIC RESEARCH IN ENGINEERING AND MANAGEMENT**, v. 08, n. 02, p. 1–10, 16 fev. 2024.

BAPTISTA, R. S. et al. Morphological and Mechanical Characterization of Films Incorporating Porphyran Extracted from *Porphyra dioica*. **Coatings**, v. 12, n. 11, p. 1720, 10 nov. 2022.

BELLOMO, R.; KELLUM, J. A.; RONCO, C. **Acute kidney injury.** **The Lancet** Elsevier B.V., , 2012.

BEN SAAD, H. et al. Mitigation of Hepatic Impairment with Polysaccharides from Red Alga *Albidum corallinum* Supplementation through Promoting the Lipid Profile and Liver Homeostasis in Tebuconazole-Exposed Rats. **Pharmaceuticals**, v. 16, n. 9, p. 1305, 15 set. 2023.

BEZERRA, F. F. et al. Antidiarrheal activity of a novel sulfated polysaccharide from the red seaweed *Gracilaria cervicornis*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 224, p. 27–35, out. 2018a.

BEZERRA, F. F. et al. Antidiarrheal activity of a novel sulfated polysaccharide from the red seaweed *Gracilaria cervicornis*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 224, p. 27–35, out. 2018b.

BHOKARIKAR, S. et al. Parameters affecting the efficiency of extraction systems in the food industries. Em: **Extraction Processes in the Food Industry**. [s.l.] Elsevier, 2024. p. 397–434.

BILAN, M. I. et al. Sulfated polysaccharides of the Vietnamese brown alga *Sargassum aquifolium* (Fucales, Sargassaceae). **Carbohydrate Research**, v. 449, p. 23–31, set. 2017.

BRAGA, S. P. et al. Switching from high-fat feeding (HFD) to regular diet improves metabolic and behavioral impairments in middle-aged female mice. **Behavioural Brain Research**, v. 398, p. 112969, fev. 2021.

BRITO, T. V et al. Sulfated-polysaccharide fraction extracted from red algae *Gracilaria birdiae* ameliorates trinitrobenzenesulfonic acid-induced colitis in rats. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 66, n. 8, p. 1161–1170, 10 jul. 2014.

CHAUDRY, I. H.; BLAND, K. I. Cellular mechanisms of injury after major trauma. **British Journal of Surgery**, v. 96, n. 10, p. 1097–1098, 28 set. 2009.

CHAVES, L. DE S. et al. Antiinflammatory and antinociceptive effects in mice of a sulfated polysaccharide fraction extracted from the marine red algae *Gracilaria caudata*. **Immunopharmacology and Immunotoxicology**, v. 35, n. 1, p. 93–100, 26 fev. 2013.

CHEN, C.-H. Metabolite-Associated Cell Toxicities. Em: **Activation and Detoxification Enzymes**. Cham: Springer Nature Switzerland, 2024. p. 107–117.

CHEN, T. et al. Antioxidant Activity of Polysaccharides From Natural Sources. **Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research**, v. 80, n. 5, p. 705–716, 21 nov. 2023.

CHIANG, C.-F.; LAI, L.-S. Effect of enzyme-assisted extraction on the physicochemical properties of mucilage from the fronds of *Asplenium australasicum* (J. Sm.) Hook. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 124, p. 346–353, mar. 2019.

CHOTHE, P. P. et al. Liver Perfusion and Primary Hepatocytes for Studying Drug Metabolism and Metabolite Excretion. Em: **Oral Bioavailability and Drug Delivery**. [s.l.] Wiley, 2023. p. 757–778.

CHUMSOOK, K.; PRAIBOON, J.; FU, X. Sulfated Galactans from Agarophytes: Review of Extraction Methods, Structural Features, and Biological Activities. **Biomolecules**, v. 13, n. 12, p. 1745, 5 dez. 2023.

CIANCIA, M.; MATULEWICZ, M. C.; TUVIKENE, R. Structural Diversity in Galactans From Red Seaweeds and Its Influence on Rheological Properties. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, 10 set. 2020.

CLAUDEMIR DE CARVALHO et al. SCREENING HIPOCRÁTICO DE RATOS TRATADOS COM EXTRATO HIDROETANÓLICO DE *Solanum auriculatum* AITON. **Revista Panorâmica online**, v. 18, p. 15–25, 2015.

CUELLAR-BERMUDEZ, S. P. et al. **Extraction and purification of high-value metabolites from microalgae: Essential lipids, astaxanthin and phycobiliproteins**. **Microbial Biotechnology** John Wiley and Sons Ltd, , 1 mar. 2015.

DARKO, C. N. S. et al. Rheology and characterization of sulfated agarans from the edible epiphytic red alga, *Vertebrata lanosa* (truffle seaweed). **Food Hydrocolloids**, v. 151, p. 109770, jun. 2024.

DE SILVA, M. L. I. et al. Seaweed (macroalgae) diversity on the Dikwella coast, Southern Sri Lanka. **TAPROBANICA**, v. 11, n. 2, p. 119–121, 22 nov. 2022.

DEAN, P. J. et al. Amiodarone-Associated Pulmonary Toxicity: A Clinical and Pathologic Study of Eleven Cases. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 87, n. 1, p. 7–13, 1 jan. 1987.

DENG, C. et al. Multiscale structure and precipitation mechanism of debranched starch precipitated by different alcohols. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 241, p. 124562, jun. 2023.

DENNY, K. H. Acute, Subacute, Subchronic, and Chronic General Toxicity Testing for Preclinical Drug Development. Em: **A Comprehensive Guide to Toxicology in Nonclinical Drug Development**. [s.l.] Elsevier, 2024. p. 149–171.

DUTRA, N. L. S. et al. Sulfated polysaccharide extracted from seaweed *Gracilaria caudata* attenuates acetic acid-induced ulcerative colitis. **Food Hydrocolloids**, v. 111, p. 106221, fev. 2021.

ESHETU, N. Evaluation of the Acute and Sub-chronic Toxic Effects of Aqueous Leaf Extracts of *Artemisia afra* on Liver, Kidney and Some Blood Parameters in Wistar Rats. **Advances in Bioscience and Bioengineering**, v. 4, n. 1, p. 1, 2016.

FAROOQ, S. et al. Extraction techniques. Em: **Plant Extracts: Applications in the Food Industry**. [s.l.] Elsevier, 2022. p. 23–37.

FORTNUM, D. Introduction to Kidney Functions and Pathophysiology. Em: [s.l.: s.n.]. p. 1–11.

GHALIAOUI, N.; HAZZIT, M.; MOKRANE, H. Seaweeds as a Potential Source of Bioactive Compounds. **Research in Biotechnology and Environmental Science**, v. 3, n. 1, p. 1–8, 28 mar. 2024.

GONÇALVES, A. G. et al. Positional isomers of sulfated oligosaccharides obtained from agarans and carrageenans: preparation and capillary electrophoresis separation. **Carbohydrate Research**, v. 340, n. 13, p. 2123–2134, set. 2005.

GONG, P. et al. Structure Characterization, In Vitro Antioxidant and Anti-Tumor Activity of Sulfated Polysaccharide from *Siraitia grosvenorii*. **Foods**, v. 12, n. 11, p. 2133, 25 maio 2023.

GOSWAMI, M. J.; DUTTA, U.; KAKATI, D. Ultrasound-Assisted Extraction for Food, Pharmacy, and Biotech Industries. Em: [s.l: s.n.]. p. 103–128.

GUPTA, P. K. Disposition of Toxicants. Em: **Problem Solving Questions in Toxicology**: Cham: Springer International Publishing, 2020. p. 57–68.

HAFTING, J. T. et al. Marine Algae: Gathered Resource to Global Food Industry. Em: [s.l: s.n.]. p. 403–427.

HAN, R. et al. Polysaccharide from *Gracilaria Lemaneiformis* prevents colitis in Balb/c mice via enhancing intestinal barrier function and attenuating intestinal inflammation. **Food Hydrocolloids**, v. 109, p. 106048, dez. 2020.

HAN, R. et al. The possible mechanism of the protective effect of a sulfated polysaccharide from *Gracilaria Lemaneiformis* against colitis induced by dextran sulfate sodium in mice. **Food and Chemical Toxicology**, v. 149, p. 112001, mar. 2021.

HAO, Z. et al. Modification, Structural Characterizations, and Biological Activities of Sulfated Polysaccharides: A Review. **Starch - Stärke**, v. 76, n. 5–6, 21 maio 2024.

HONG, S. J. et al. Toxicological evaluation of neoagarooligosaccharides prepared by enzymatic hydrolysis of agar. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 90, p. 9–21, nov. 2017.

HWANG, E. K. et al. Seaweed breeding programs and progress in eastern Asian countries. **Phycologia**, v. 58, n. 5, p. 484–495, 3 set. 2019.

IBAÑEZ, E.; CIFUENTES, A. Benefits of using algae as natural sources of functional ingredients. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 93, n. 4, p. 703–709, 15 mar. 2013.

ILUZ-FREUNDLICH, D. et al. The relative expression of hepatocellular and cholestatic liver enzymes in adult patients with liver disease. **Annals of Hepatology**, v. 19, n. 2, p. 204–208, 1 mar. 2020.

IMJONGJAIRAK, S. et al. Biochemical characteristics and antioxidant activity of crude and purified sulfated polysaccharides from *Gracilaria fisheri*. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 80, n. 3, p. 524–532, 3 mar. 2016.

ISMAIL, M. M.; ALOTAIBI, B. S.; EL-SHEEKH, M. M. Therapeutic Uses of Red Macroalgae. **Molecules**, v. 25, n. 19, p. 4411, 25 set. 2020.

JIAO, G. et al. Chemical Structures and Bioactivities of Sulfated Polysaccharides from Marine Algae. **Marine Drugs**, v. 9, n. 2, p. 196–223, 8 fev. 2011.

JING, Y. et al. Effects of Extraction Methods on the Physicochemical Properties and Biological Activities of Polysaccharides from *Polygonatum sibiricum*. **Foods**, v. 12, n. 10, p. 2088, 22 maio 2023.

JÚNIOR, G. J. D. et al. Macromolecule extracted from *Gracilaria caudata* reduces inflammation and restores hepatic function in nimesulide-induced hepatic damage. **Journal of Applied Phycology**, v. 32, n. 2, p. 1511–1520, 24 abr. 2020.

KANJANAPOTHI, D. Toxicity of crude rhizome extract of *Kaempferia galanga* L. (Proh Hom). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 90, n. 2–3, p. 359–365, fev. 2004.

KHAN, B. M. et al. Physicochemical characterization of *Gracilaria chouae* sulfated polysaccharides and their antioxidant potential. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 134, p. 255–261, ago. 2019.

KHAN, B. M. et al. Antioxidant Potential of Physicochemically Characterized *Gracilaria blodgettii* Sulfated Polysaccharides. **Polymers**, v. 13, n. 3, p. 442, 30 jan. 2021.

KING, R. S. Biotransformations in Drug Metabolism. Em: **Drug Metabolism Handbook**. [s.l.] Wiley, 2022. p. 17–39.

KOMISARSKA, P. et al. Carrageenan as a Potential Factor of Inflammatory Bowel Diseases. **Nutrients**, v. 16, n. 9, p. 1367, 30 abr. 2024.

KRISHNA P S, R. et al. Toxicological evaluation of fucoidan, a polysaccharide isolated from *Turbinaria conoides* (J. agardh) Kutzing procured from mandapam coastal area, tamilnadu. **Journal of medical pharmaceutical and allied sciences**, v. 11, n. 2, p. 4629–4635, 30 mar. 2022.

KRSTIC, D. et al. Biochemical Markers of Renal Function. **Current Medicinal Chemistry**, v. 23, n. 19, p. 2018–2040, 19 jul. 2016.

LALLA, P.; BANU PATHAN, S.; JAWADE, P. Correlation of Serum Urea and Serum Creatinine in Diabetics patients and normal individuals. **International Journal of Clinical Biochemistry and Research**, v. 7, n. 1, p. 45–48, 28 maio 2020.

LE MAHO, Y. et al. Stress in birds due to routine handling and a technique to avoid it. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 263, n. 4, p. R775–R781, 1 out. 1992.

LEKSHMI, V. S.; RAUF, A. A.; MURALEEDHARA KURUP, G. Toxicological Evaluation of Bioactive Sulfated Polysaccharides from the Edible Marine Algae *Padina tetraströmatica* and *Ulva fasciata* in Sprague-Dawley Rats. **Journal of Biologically Active Products from Nature**, v. 9, n. 2, p. 79–96, 4 mar. 2019.

LEÓDIDO, A. C. M. et al. Anti-diarrhoeal therapeutic potential and safety assessment of sulphated polysaccharide fraction from *Gracilaria intermedia* seaweed in mice. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 97, p. 34–45, abr. 2017a.

LEÓDIDO, A. C. M. et al. Anti-diarrhoeal therapeutic potential and safety assessment of sulphated polysaccharide fraction from *Gracilaria intermedia* seaweed in mice. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 97, p. 34–45, abr. 2017b.

LEVINE, B. S. et al. Toxicologic Evaluation of Streptozotocin (NSC 85998) in Mice, Dogs and Monkeys. **Drug and Chemical Toxicology**, v. 3, n. 2, p. 201–212, 27 jan. 1980.

LI, F.; LIU, K. Research progress in the preparation, structural characterization, bioactivities, and potential applications of sulfated agarans from the genus *Gracilaria*. **Journal of Food Biochemistry**, v. 46, n. 12, 22 dez. 2022.

LI, Z. et al. *Gracilaria* extract reduce hyperglycemia by modulating gut microbial and short chain fatty acids. **Journal of Agriculture and Food Research**, v. 18, p. 101100, dez. 2024.

LIQUORI, G. E. et al. Glycoconjugate histochemistry of the digestive tract of *Triturus carnifex* (Amphibia, Caudata). **Journal of Molecular Histology**, v. 38, n. 3, p. 191–199, 14 jun. 2007.

LIU, A. et al. Using chemical and biological data to predict drug toxicity. **SLAS Discovery**, v. 28, n. 3, p. 53–64, abr. 2023.

LOMARTIRE, S.; GONÇALVES, A. M. M. Algal Phycocolloids: Bioactivities and Pharmaceutical Applications. **Marine Drugs**, v. 21, n. 7, p. 384, 28 jun. 2023.

LONG, H. et al. Physicochemical characterization and bile acid-binding capacity of water-extract polysaccharides fractionated by stepwise ethanol precipitation from *Caulerpa lentillifera*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 150, p. 654–661, maio 2020.

LONG, X. et al. Antioxidant Activity of *Gracilaria lemaneiformis* Polysaccharide Degradation Based on Nrf-2/Keap-1 Signaling Pathway in HepG2 Cells with Oxidative Stress Induced by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. **Marine Drugs**, v. 20, n. 9, p. 545, 24 ago. 2022.

LU, X. Changes in the structure of polysaccharides under different extraction methods. **eFood**, v. 4, n. 2, 28 abr. 2023.

LUCIO, E. M. R. DE A. et al. Avaliação toxicológica aguda e screening hipocrático da epiisopilosina, alcalóide secundário de *Pilocarpus microphyllus* Stapf. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 9–10, n. 1, 2000.

LYRA, G. DE M. et al. Aspectos ecológicos de *Gracilaria Grev.* (Gracilariales, Rhodophyta) em uma praia tropical brasileira. **Revista de Gestão Costeira Integrada**, v. 11, n. 4, p. 451–457, dez. 2011.

MAHADEVAN, K. Seaweeds: a sustainable food source. Em: **Seaweed Sustainability**. [s.l.] Elsevier, 2015. p. 347–364.

MAHAJAN, P.; PALKAR, M.; PINGILI, R. B. Drug reactive metabolite-induced hepatotoxicity: a comprehensive review. **Toxicology Mechanisms and Methods**, v. 34, n. 6, p. 607–627, 23 jul. 2024.

MAHMOOD, F.; HACKL, F. Hepatic Function and Metabolism. Em: ABD-ELSAYED, A. (Ed.). **Basic Anesthesia Review**. [s.l.] Oxford University Press New York, 2024. p. 707–708.

MATOS, Â. P.; NOVELLI, E.; TRIBUZI, G. Editorial: Algae as food and ingredient: from production to consumer acceptance. **Frontiers in Food Science and Technology**, v. 3, 18 maio 2023.

MAXWELL, L. Absorption, distribution, and excretion in complex organisms. Em: **An Introduction to Interdisciplinary Toxicology**. [s.l.] Elsevier, 2020. p. 17–29.

MENAA, F. et al. Ecological and Industrial Implications of Dynamic Seaweed-Associated Microbiota Interactions. **Marine Drugs**, v. 18, n. 12, p. 641, 14 dez. 2020.

MENAA, F. et al. Marine Algae-Derived Bioactive Compounds: A New Wave of Nanodrugs? **Marine Drugs**, v. 19, n. 9, p. 484, 26 ago. 2021.

MINERS, J. et al. The Role of the Kidney in Drug Elimination: Transport, Metabolism, and the Impact of Kidney Disease on Drug Clearance. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 102, n. 3, p. 436–449, 26 set. 2017.

MORT, E. J. et al. Age and an obesogenic diet affect mouse behaviour in a sex-dependent manner. **European Journal of Neuroscience**, v. 58, n. 2, p. 2451–2468, 28 jul. 2023.

MOUSA, R. et al. Acute Toxic Effects of AB-CHMINACA on Lung, Heart and Liver: An Experimental Pilot Study. **Ain Shams Journal of Forensic Medicine and Clinical Toxicology**, v. 37, n. 2, p. 128–135, 1 jul. 2021.

MURUGAN, S. S. et al. Antioxidant properties of marine-derived polysaccharides and metal nanoparticles. Em: **Marine Antioxidants**. [s.l.] Elsevier, 2023. p. 489–494.

MUSCHIN, T. et al. ChemInform Abstract: Sulfated Polysaccharides as Specific Biologically Active Materials. **ChemInform**, v. 43, n. 25, 19 jun. 2012.

NAKAMURA-GOUVEA, N. et al. Insights into agar and secondary metabolite pathways from the genome of the red alga *Gracilaria domingensis* (Rhodophyta, Gracilariales). **Journal of Phycology**, v. 58, n. 3, p. 406–423, 21 jun. 2022.

OBACH, R. S.; ISOHERRANEN, N. Pathways of drug metabolism. Em: **Atkinson's Principles of Clinical Pharmacology**. [s.l.] Elsevier, 2022. p. 151–168.

OLIVEIRA, G. L. S. Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais in vitro pelo método do DPPH•: estudo de revisão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 1, p. 36–44, mar. 2015.

ORTEGA-VALLBONA, R. et al. Uncovering the toxicity mechanisms of a series of carboxylic acids in liver cells through computational and experimental approaches. **Toxicology**, v. 504, p. 153764, maio 2024.

PABLO HUIDOBRO, J. E.; TAGLE, RODRIGO; MARÍA GUZMÁN, ANA. **Creatinina y su uso para la estimación de la velocidad de filtración glomerular** Artículo de revisión rev **Med chile**. [s.l: s.n.].

PEI, Y. et al. Structural Characterization of Sulfated Polysaccharide Isolated From Red Algae (*Gelidium crinale*) and Antioxidant and Anti-Inflammatory Effects in Macrophage Cells. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 9, 18 nov. 2021.

PERCIVAL, E. The polysaccharides of green, red and brown seaweeds: Their basic structure, biosynthesis and function. **British Phycological Journal**, v. 14, n. 2, p. 103–117, jun. 1979.

QIU, S.-M. et al. Bioactive polysaccharides from red seaweed as potent food supplements: a systematic review of their extraction, purification, and biological activities. **Carbohydrate Polymers**, v. 275, p. 118696, jan. 2022.

QUEIROZ, R.; DIAS, T. Molluscs associated with the macroalgae of the genus *Gracilaria* (Rhodophyta): importance of algal fronds as microhabitat in a hypersaline

mangrove in Northeastern Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 74, n. 3 suppl 1, p. S052–S063, ago. 2014.

RASHIDI OTHMAN et al. Carotenoid Pigments of Red, Green and Brown Macroalgae Species as Potential Active Pharmaceutical Ingredients. **Journal of Pharmacy and Nutrition Sciences**, v. 9, n. 1, p. 14–19, 5 jan. 2019.

RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 9–10, p. 1231–1237, maio 1999.

RENGASAMY, K. RR. et al. Bioactive compounds in seaweeds: An overview of their biological properties and safety. **Food and Chemical Toxicology**, v. 135, p. 111013, jan. 2020.

RIBEIRO, A. J. S. et al. **Liver Microphysiological Systems for Predicting and Evaluating Drug Effects. Clinical Pharmacology and Therapeutics** Nature Publishing Group, , 1 jul. 2019.

SALIDO, M.; SOTO, M.; SEOANE, S. Seaweed: Nutritional and gastronomic perspective. A review. **Algal Research**, v. 77, p. 103357, jan. 2024.

SAMBYAL, S.; SRAVANTHI, V.; SAMPATH KUMAR, H. M. Biological evaluation of chemically synthesized sulfated maltodextrin as an immunomodulator. **Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre**, v. 28, p. 100313, nov. 2022.

SANDS, J. M.; VERLANDER, J. W. Functional Anatomy of the Kidney. Em: **Comprehensive Toxicology**. [s.l.] Elsevier, 2018. p. 1–26.

SANKEERTHI C H, S. L. V et al. A study on evaluating blood urea and serum creatinine in diabetes mellitus patients. **International Journal of Clinical Biochemistry and Research**, v. 8, n. 4, p. 285–288, 28 jan. 2022.

SCHAFER, K. Organ Weights in Toxicologic Pathology. **Toxicologic Pathology**, v. 35, n. 5, p. 741–741, 6 ago. 2007.

SELLERS, R. S. et al. Society of Toxicologic Pathology Position Paper: Organ Weight Recommendations for Toxicology Studies. **Toxicologic Pathology**, v. 35, n. 5, p. 751–755, 6 ago. 2007.

SHAO, Z.; DUAN, D. The Cell Wall Polysaccharides Biosynthesis in Seaweeds: A Molecular Perspective. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, 10 maio 2022.

SHARMA, U. et al. Seaweed- A Sustainable Food Source in the Food Industry. Em: [s.l: s.n.]. p. 187–203.

SILVA, M. G. DA et al. A importância dos ensaios de toxicidade para o desenvolvimento e o registro de fitoterápicos no Brasil. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 12, p. e538101220137, 30 set. 2021.

SILVA, R. O. et al. Sulfated-Polysaccharide Fraction from Red Algae *Gracilaria caudata* Protects Mice Gut Against Ethanol-Induced Damage. **Marine Drugs**, v. 9, n. 11, p. 2188–2200, 2 nov. 2011.

SIMON, L.; SOUZA-SMITH, F. M.; MOLINA, P. E. Alcohol-Associated Tissue Injury: Current Views on Pathophysiological Mechanisms. **Annual Review of Physiology**, v. 84, n. 1, p. 87–112, 10 fev. 2022.

SODRÉ, F. L.; COSTA, J. C. B.; LIMA, J. C. C. Avaliação da função e da lesão renal: um desafio laboratorial. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 43, n. 5, out. 2007.

SOUSA, N. A. et al. The efficacy of a sulphated polysaccharide fraction from *Hypnea musciformis* against diarrhea in rodents. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 86, p. 865–875, 1 maio 2016.

SQUAIR, C. et al. Effects of Changing Veterinary Handling Techniques on Canine Behaviour and Physiology Part 1: Physiological Measurements. **Animals**, v. 13, n. 7, p. 1253, 4 abr. 2023.

TABOSA, B. et al. A avaliação bioquímica do sistema urinário como ferramenta diagnóstica: Revisão. **Pubvet**, v. 14, n. 12, 28 out. 2020.

TAMBER, S. S. et al. Biomarkers of liver diseases. **Molecular Biology Reports**, v. 50, n. 9, p. 7815–7823, 24 set. 2023.

TAMURA, J. Facile Synthesis of Biofunctional Oligosaccharides of Chondroitin Sulfate. **Journal of the Japan Petroleum Institute**, v. 61, n. 5, p. 239–245, 1 set. 2018.

TANG, W. Drug metabolite profiling and elucidation of drug-induced hepatotoxicity. **Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology**, v. 3, n. 3, p. 407–420, 31 jun. 2007.

THAKURI, L. SEN et al. *Gracilaria chorda* subcritical water ameliorates hepatic lipid accumulation and regulates glucose homeostasis in a hepatic steatosis cell model and obese C57BL/6J mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 320, p. 117395, fev. 2024.

TRAN, P. N. T.; TRAN, T. T. N. Evaluation of Acute and Subchronic Toxicity Induced by the Crude Ethanol Extract of *Plukenetia volubilis* Linneo Leaves in Swiss Albino Mice. **BioMed Research International**, v. 2021, 2021.

TREFTS, E.; GANNON, M.; WASSERMAN, D. H. **The liver**. **Current Biology** Cell Press, , 6 nov. 2017.

TSAI, M.-Y. et al. The Ameliorative Effects of Fucoïdan in Thioacetaide-Induced Liver Injury in Mice. **Molecules**, v. 26, n. 7, p. 1937, 30 mar. 2021.

VEERAGURUNATHAN, V. et al. Seaweed biotechnology implications to aquaculture. Em: **Frontiers in Aquaculture Biotechnology**. [s.l.] Elsevier, 2023. p. 219–237.

WANG, L. et al. Protective effects of sulfated polysaccharides isolated from the enzymatic digest of *Codium fragile* against hydrogen peroxide-induced oxidative stress in in vitro and in vivo models. **Algal Research**, v. 48, p. 101891, jun. 2020.

WANG, W. et al. Acute and Subacute Toxicity Assessment of Oxyclozanide in Wistar Rats. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 6, 6 set. 2019.

WANG, X. et al. Inflammatory signaling on cytochrome P450-mediated drug metabolism in hepatocytes. **Frontiers in Pharmacology**, v. 13, 24 out. 2022.

WU, G. et al. Subcritical water extraction of polysaccharides from *Gastrodiae Rhizoma*: optimization, characterization and in vitro hepatoprotective activity. **Preparative Biochemistry & Biotechnology**, v. 54, n. 5, p. 612–621, 2 maio 2024.

XU, L. et al. The regulate function of polysaccharides and oligosaccharides that with sulfate group on immune-related disease. **Journal of Functional Foods**, v. 88, p. 104870, jan. 2022.

YALÇIN, S. et al. HPLC Detection and Antioxidant Capacity Determination of Brown, Red and Green Algal Pigments in Seaweed Extracts. **Journal of Chromatographic Science**, v. 59, n. 4, p. 325–337, 19 mar. 2021.

YIRMIYA, R. Endotoxin produces a depressive-like episode in rats. **Brain Research**, v. 711, n. 1–2, p. 163–174, mar. 1996.

YOSHIMURA, C. Y. **Avaliação do potencial de cultivo e produção de ágar de *Gracilaria domingensis* e de *Gracilaria caudata* na Enseada de Armação do Itapocoroy (Penha, Santa Catarina)**. São Paulo: Universidade de São Paulo, 8 ago. 2006.

YU, G. et al. Sulfated polysaccharides from red seaweed *Gelidium amansii*: Structural characteristics, anti-oxidant and anti-glycation properties, and development of bioactive films. **Food Hydrocolloids**, v. 119, p. 106820, out. 2021.

ZHANG, Y. et al. Evaluation of acute and sub-chronic toxicity of *lithothamnion* sp. in mice and rats. **Toxicology Reports**, v. 7, p. 852–858, 2020.

## ANEXOS

### Anexo A - Protocolo de aprovação do comitê de ética



Universidade Federal de Pernambuco  
 Centro de Biociências  
 Av. Prof. Nelson Chaves, s/n  
 50670-420 / Recife - PE - Brasil  
 Fones: 2126 8842  
 ceua@ufpe.br

Recife, 29 de julho de 2021

Ofício nº45/21

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE

**Prof. Renan Oliveira Silva Damasceno**

Centro de Biociências

Departamento de Fisiologia e Farmacologia

processo nº0038/2021

Certificamos que a proposta intitulada "**Avaliação da toxicidade aguda e subcrônica de polissacarídeos sulfatados obtidos a partir de algas marinhas.**" registrado com o nº0038/2021 sob a responsabilidade da **Prof. Renan Oliveira Silva Damasceno** envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE), em reunião de 27/07/2021

Finalidade	( ) Ensino (x) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	27/07/2021 a 31/12/2023
Espécie/linhagem/raça	Camundongo isogênico
Nº de animais	252 animais
Peso/Idade	25 a 30g /12 meses 2
Sexo	Femea (105) Macho (147)
Origem: Biotério de Criação	Departamento de Fisiologia e Farmacologia da UFPE
Destino: Biotério de Experimentação	Departamento de Fisiologia e Farmacologia da UFPE

Atenciosamente

Prof. Sebastião R. F. Silva  
 Presidente CEUA/UFPE  
 SIAPE 2349691