



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



**AVALIAÇÃO DE ATIVIDADES BIOLÓGICAS E TOXICIDADE DE EXTRATOS
SALINOS E LECTINA DE FOLHAS DE *Portulaca elatior* Mart. Ex Rohrb.**

SUÉLLEN PEDROSA DA SILVA

RECIFE
2023

SUÉLLEN PEDROSA DA SILVA

**AVALIAÇÃO DE ATIVIDADES BIOLÓGICAS E TOXICIDADE DE EXTRATO
SALINO E LECTINA DE FOLHAS DE *Portulaca elatior***

Tese apresentada ao Programa de
Ciências Biológicas da
Universidade Federal de
Pernambuco, como exigência para
obtenção do título de Doutora em
Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Thiago Henrique Napoleão

Coorientadora: Dr. Pollyanna Michelle da Silva

RECIFE

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD

Silva, Suéllen Pedrosa da

Avaliação de atividades biológicas e toxicidade de extrato salino e lectina de folhas de *Portulaca elatior* / Suéllen Pedrosa da Silva– 2023.

105 f. : il., fig., tab.

Orientador: Thiago Henrique Napoleão

Coorientadora: Pollyanna Michelle da Silva

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Recife, 2023.

Inclui referências e anexo.

1. Fitoquímicos 2. Lectinas 3. Testes de toxicidade I. Napoleão, Thiago Henrique (orient.) II. Silva, Pollyanna Michelle da (coorient.) III. Título

572.2

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2023 -231

SUÉLLEN PEDROSA DA SILVA

**AVALIAÇÃO DE ATIVIDADES BIOLÓGICAS E TOXICIDADE DE EXTRATO
SALINO E LECTINA DE FOLHAS DE *Portulaca elatior***

Data da aprovação da tese: 27 de Julho de 2023

Tese apresentada ao Programa de
Ciências Biológicas da
Universidade Federal de
Pernambuco, como exigência para
obtenção do título de Doutora em
Ciências Biológicas.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Thiago Henrique Napoleão (Presidente)
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

Profº. Dr. Alisson Macário de Oliveira (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

Profa. Dra. Thâmarah de Albuquerque Lima (Examinadora Interna)
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

Prof. Dr. Wêndeo Kennedy Costa (Examinador Externo)
Centro Universitário Estácio do Recife

Prof. Dr. Caio César da Silva Guedes (Examinador Externo)
Centro Universitário Brasileiro (UNIBRA)

RESUMO

A biodiversidade brasileira é riquíssima e inclui uma gama de espécies vegetais com potencial biotecnológico. O presente trabalho avaliou bioatividades e toxicidade de extratos salino de folhas e caule de *Portulaca elatior*, e da lectina de folhas (PeLL). O extrato salino foi obtido utilizando a farinha de folhas e caules de *P. elatior* para extração em NaCl 0,15 M. Os extratos brutos obtidos foram caracterizados por cromatografia em camada delgada (CCD) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE); avaliados quanto à atividade antioxidante (sequestro de DPPH e ABTS⁺) e determinação da capacidade antioxidante total; e mensuração da atividade fotoprotetora dos extratos por determinação do fator de proteção solar (FPS) *in vitro*. O extrato de folhas foi selecionado para os testes de toxicidade *in vivo* (toxicidade aguda oral e toxicidade dérmica) e *in vitro* (atividade hemolítica). PeLL foi purificada por cromatografia de afinidade em matriz de quitina, e submetida à caracterização da atividade hemaglutinante (AH) e estabilidade molecular em diferentes condições, do peso molecular (PM) e do ponto isoelétrico (pI). O potencial antimicrobiano de PeLL foi avaliado contra espécies de *Pectobacterium sp.* e *Candida sp.*; e toxicidade oral aguda *in vivo* e atividade hemolítica foi esclarecida. Os extratos salinos de folhas e caules de *P. elatior* possuem em sua composição fenóis, flavonoides, açúcares redutores, terpenos e esteroides; O perfil obtido a partir de HPLC demonstra a presença de 3 picos, ambos com espectros UV's compatíveis com flavonoides nas amostras de extrato de caule e folhas, enquanto apenas SES possui um quarto pico correspondente a um tanino elágico. O extrato de folhas demonstrou maior eficácia em capturar os radicais livres ABTS⁺ (CI₅₀: 34,15 µg/mL) e DPPH (CI₅₀: 55,44 µg/mL), bem como maior CAT (CI₅₀: 413,3 µg/mL) quando comparado ao extrato de caule (CI₅₀ de 628,80, 2.499 e 9.475 µg/mL ABTS⁺ DPPH e CAT respectivamente). O extrato de folhas apresentou FPS > 6 nas concentrações de 50 e 100 µg/mL, enquanto o extrato de caule apresentou FPS < 6; além disso não causou morte nem alterações severas nos parâmetros fisiológicos, hematológicos e bioquímicos dos camundongos, bem como apresentou baixa ação hemolítica. PeLL foi purificada em um único pico de proteínas adsorvidas à matriz e foi eluída com ácido acético; Apresentou AH específica de 744,2 (fator de purificação de 1.695 vezes), uma única banda polipeptídica em eletroforese para proteínas nativas ácidas, pI 5,4 e PM de 20 kDa, A AH foi inibida por manose, galactose, Ca²⁺, Mg²⁺ e Mn²⁺, apresentou AH mais expressiva na faixa de pH ácido (3,0–6,0) e se manteve estável mesmo diante do aquecimento a 100°C, embora tenham sido detectadas alterações conformacionais após o aquecimento. A lectina apresentou concentração mínima inibitória (CMI) e concentração mínima bactericida (CMB) de 0,185 e 0,74 µg/mL, respectivamente, para todas as cepas de *Pectobacterium sp.* avaliadas. Além disso, PeLL apresentou CMI e concentração mínima fungicida (CMF) de 1,48 µg/mL para *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. krusei*; e CMI e CMF de 0,74 e 2,96 µg/mL, respectivamente, para *C. parapsilosis*. Nenhuma atividade hemolítica *in vitro* ou sinais de toxicidade aguda *in vivo* em camundongos foram observados. O presente estudo mostrou que os extratos salinos de caules e folhas de *P. elatior* demonstraram atividade antioxidante e fotoprotetora. Não apresentando toxicidade aguda oral ou dérmica letal. PeLL não apresentou toxicidade *in vitro* e *in vivo* letal demonstrando promissora atividade antimicrobiana.

Palavras chaves: *Portulaca elatior*; Lectina antimicrobiana; Toxicidade; *Candida*; *Pectobacterium*.

ABSTRACT

Brazilian biodiversity includes a range of plant species that produce molecules with antimicrobica, antioxidant and photoprotective activities, among others. This study aimed to evaluate the biological activities and toxicity of saline extracts from leaves and stems of *Portulaca elatior*, as well as a lectin (PeLL) isolated from its leaves. The leaves or stems of *P. elatior* were dried, crushed and homogenized in 0.15 M NaCl to obtain saline extracts, which were subjected to chemical characterization by thin layer chromatography (TLC) and high-performance liquid chromatography (HPLC). The extracts were evaluated for antioxidant activity by DPPH and ABTS+ radical scavenging methods and determination of total antioxidant capacity (TAC). The photoprotective activity of the extracts was measured by determining the sun protection factor (SPF) *in vitro*. Finally, the leaf extract, with the most significant biological activities, was selected for *in vivo* (acute oral toxicity and dermal toxicity; 1000 and 2000 mg/kg) and *in vitro* (hemolytic activity; 7.81–1.000 µg/mL). For PeLL purification, the leaf extract was subjected to chitin column chromatography. PeLL was then subjected to evaluations of its hemagglutinating activity (HA) in the presence of ions, carbohydrates and different values of pH and temperature. The isoelectric point (pI), molecular mass and stability against denaturing agents (by fluorimetric analysis) were also determined. Finally, PeLL was evaluated for antimicrobial activity against *Pectobacterium* and *Candida* species, acute oral toxicity *in vivo* (5 and 10 mg/kg) and hemolytic activity. The results showed that extracts from leaves and stems of *P. elatior* have phenols, flavonoids, reducing sugars, terpenes, and steroids in their composition. In terms of antioxidant activity, the leaf extract was more effective in capturing free radicals ABTS+ (IC₅₀: 34.15 µg/mL) and DPPH (IC₅₀: 55.44 µg/mL), as well as higher CAT (IC₅₀: 413.3 µg/mL) when compared to the stem extract (IC₅₀ of 628.80, 2,499 and 9,475 µg/mL in the ABTS+, DPPH and CAT assays, respectively). This was also observed for photoprotective activity, with the leaf extract showing SPF > 6 at concentrations of 50 and 100 µg/mL, while the stem extract showed SPF < 6. The leaf extract did not cause death or changes in physiological parameters, hematological and biochemical properties of mice, as well as showed low hemolytic action. About the purification of PeLL, chromatography of the leaf extract on a chitin column resulted in a single peak of proteins adsorbed and eluted with acetic acid. PeLL showed a specific AH of 744.2 (1695-fold purification factor), a single polypeptide band on electrophoresis for acidic native proteins, pI 5.4 and a molecular mass of 20 kDa. The lectin had its AH inhibited by mannose, galactose, Ca²⁺, Mg²⁺ and Mn²⁺. PeLL AH remained stable even when heated to 100 °C, although conformational changes were detected after heating. PeLL showed more expressive HA in the acidic pH range (3.0–6.0). The lectin showed minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of 0.185 and 0.74 µg/mL, respectively, for all *Pectobacterium* strains evaluated. In addition, PeLL presented MIC and minimum fungicidal concentration (MFC) of 1.48 µg/mL for *C. albicans*, *C. tropicalis* and *C. krusei*; and MIC and MIC of 0.74 and 2.96 µg/mL, respectively, for *C. parapsilosis*. No *in vitro* hemolytic activity or signs of acute toxicity *in vivo* in mice were observed. A new lectin (PeLL) was purified from *P. elatior* leaves, showing promise due to its antimicrobial activity and not presenting relevant *in vitro* and *in vivo* toxicity in the

evaluated parameters. Furthermore, saline extracts of stems and leaves of *P. elatior* demonstrated antioxidant and photoprotective activity. Showing no relevant acute oral or dermal toxicity in mice treated with 1000 mg/kg and slight toxicity in animals treated with 2000 mg/kg.

Keywords: *Portulaca elatior*; Antimicrobial lectin; Toxicity; *Candida*; *Pectobacterium*.

LISTA DE FIGURAS

REFERENCIAL TEÓRICO

Figura 1- <i>Portulaca elatior</i> coletada em Aroeiras.....	15
Figura 2- Obtenção de extratos vegetais por maceração. (A) Maceração estática (B) Maceração dinâmica com auxílio do agitador	17
Figura 3- Técnica de percolação para obtenção de extratos vegetais	18
Figura 4- Técnica de decocção para preparação de extratos vegetais	18
Figura 5- Infusão para obtenção de extratos de materiais vegetais	19
Figura 6- Técnicas cromatográficas de acordo com sua classificação em relação a forma física e a fase móvel	20
Figura 7- Representação da distância de corrida apresentada pelo eluente e as moléculas de interesse. Onde, D_s =distância percorrida pelo eluente; D_{c1} = distância percorrida pelo componente 1 e D_{c2} = distância percorrida pelo componente 2.....	22
Figura 8- Ensaio de detecção de lectinas através da aglutinação de eritrócitos	27
Figura 9- Classificação estrutural de lectinas de plantas em merolectinas, hololectinas, quimerolectinas e superlectinas.....	28
Figura 10- Dimorfismo de fungos da espécie <i>Candida albicans</i> , apresentando morfologia leveduriforme (a) e filamentosa (b)	42
Figura 11- <i>Pectobacterium</i> spp. causando a podridão radicular em diferentes tecidos. (A) Estágio intermediário da doença. (B, C) Estágio avançado da doença com maiores sintomas de necrose	44

LISTA DE FIGURAS

ARTIGO 1

- Figura 1-** Cromatografia líquida de alta eficiência de extratos salinos de folhas (A) e caule (B) de *P. elatior*. Os espectros de varredura dos picos estão representados ao lado direito de cada imagem.....53
- Figura 2-** Histologia de órgãos de camundongos tratados e não tratados com extrato salino de folhas de *P. elatior* nas concentrações de 1000 e 2000 mg/ml55

ARTIGO 2

- Figura 1-** Purificação de lectina de folha de *Portulaca elatior* (PeLL). A) Cromatografia do extrato da folha em uma coluna de quitina. O extrato foi lavado com NaCl 150 mM e PeLL foi eluída com ácido acético 1,0 M. Frações contendo 2,0 mL de PeLL foram coletadas a cada 6 min e monitoradas quanto à absorbância a 280 nm (triângulo invertido ou símbolos quadrados pretos) e atividade hemaglutinante (HA; círculos cinza). B) Eletroforese em gel de poliacrilamida (PAGE) de PeLL em condições nativas para proteínas ácidas. C) PAGE de PeLL em condições desnaturantes. A lectina apresentou uma única banda polipeptídica de 20 kDa. D) Focalização isoeletrica de PeLL. Observou-se uma única banda com ponto isoeletrico de 5,4..... 64
- Figura 2-** Caracterização da atividade hemaglutinante (HA) da lectina das folhas de *Portulaca elatior* (PeLL) sob diferentes condições de temperatura, pH e concentração de cátions. A) PeLL foi incubada com MgCl₂, MnCl₂ e CaCl₂, e sua AH foi avaliada. Para o controle, a AH de PeLL foi avaliada em NaCl 150 mM. B) PeLL foi incubada por 30 minutos em temperaturas variando de 30 a 100 °C antes da avaliação da AH. C) As amostras de PeLL foram incubadas por 6 h a 100°C. D) PeLL foi incubada em diferentes valores de pH (3,0–12,0) antes da determinação de AH e AH específica 65
- Figura 3-** Efeitos do aquecimento e incubação em diferentes valores de pH sobre a fluorescência intrínseca da lectina da folha de *Portulaca elatior* (PeLL) ou fluorescência da sonda extrínseca bis-ANS incubada com a lectina. A) Fluorescência intrínseca de triptofano em PeLL após aquecida a 100 °C por 30 min, 4 h, 5 h ou 6 h. B) Mudanças no espectro de fluorescência de bis-ANS quando incubado com PeLL aquecida a 100 °C por 30 min, 4 h, 5h ou 6h. C) Espectros de fluorescência intrínseca do triptofano em PeLL incubada a pH 5,0, 6,0, 11,0 ou 12,0. D) Mudanças na fluorescência dos espectros de bis-ANS quando na presença de PeLL incubado a pH 5,0, 6,0, 11,0 ou 12,0 66
- Figura 4 -** Representação esquemática da atividade hemaglutinante e sua inibição por carboidratos. A) Lectinas promovem a hemaglutinação através da ligação de seus sítios de ligação a carboidratos a glicanos encontrados na superfície dos eritrócitos. B) O ensaio de inibição é utilizado para assegurar o envolvimento das lectinas na aglutinação: a lectina é previamente incubada com carboidratos livres antes da adição dos eritrócitos; assim, o sítio de ligação do carboidrato é ocupado pelo açúcar ficando indisponível para interagir com glicanos eritrocitários e promover a aglutinação67

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1

Tabela 1 - Condições cromatográficas aplicadas a CCD	49
Tabela 2 - Atividade antioxidante de extratos salinos de <i>P. elatior</i> avaliada pelos métodos ABTS+, DPPH e CAT	53
Tabela 3 - Valores de fator de proteção solar obtidos para os extratos salinos de caule (EC) e folhas (EF) de <i>P. elatior</i> em diferentes	53
Tabela 4 - Análise dos parâmetros hematológicos em camundongos submetidos a toxicidade oral e dérmica do extrato salino de folhas de <i>Portulaca elatior</i>	54
Tabela 5 - Análises de parâmetros bioquímicos em camundongos submetidos a testes de toxicidade oral e dérmica com extrato salino de folhas de <i>Portulaca elatior</i>	54
Tabela 6 - Avaliação do edema, eritema e crescimento capilar de camundongos após aplicação tópica de extrato salino de folhas de <i>P.elatior</i>	56

ARTIGO 2

Tabela 1 - Atividade hemaglutinante (HA) da lectina da folha de <i>Portulaca elatior</i> (PeLL) na presença de carboidratos (200 mM) ou glicoproteína (1,0 mg/mL)	62
Tabela 2 - Concentração inibitória mínima (CIM) concentração mínima bactericida/fungicida (CMB/CFM) foram expressas em micrograma por mililitro de proteína; ND, não detectado.....	67
Tabela 3 - Consumo de água e ração de camundongos dos grupos controle e tratado com a lectina de folha de <i>Portulaca elatior</i> (PeLL).....	67
Tabela 4 - Parâmetros hematológicos de camundongos do grupo controle e tratados com a lectina de folhas de <i>Portulaca elatior</i> (PeLL).....	68
Tabela 5 - Parâmetros bioquímicos de camundongos do grupo controle e tratados com a lectina de folhas de <i>Portulaca elatior</i> (PeLL)	68

Sumário

1 INTRODUÇÃO.....	11
1.1 OBJETIVOS.....	11
1.1.1 Objetivo geral.....	12
1.1.2 Objetivos específicos	12
2 REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1 <i>Portulaca elatior</i>	16
2.2 Compostos bioativos de plantas.....	15
2.2.1 Obtenção de extratos vegetais	15
2.2.2 Técnicas cromatográficas para caracterização e purificação.....	19
2.2.3 Metabólitos secundários de plantas	23
2.2.4 Lectinas	24
2.3 Fotoexposição e estresse oxidativo.....	31
2.3.1 Estresse oxidativo	31
2.3.2 Radiação ultravioleta (UV) e seus efeitos	33
2.3.3 Avaliação da atividade antioxidante <i>in vitro</i>	34
2.3.4 Avaliação da atividade fotoprotetora <i>in vitro</i>	37
2.4 <i>Candida</i>	39
2.5 <i>Pectobacterium</i>	41
2.6 Métodos avaliativos da toxicidade de compostos naturais.....	43
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
3.1 Artigo 1.....	46
3.2 Artigo 2	58
4 CONCLUSÕES.....	71
REFERÊNCIAS	72
ANEXO I – COMITÊ DE ÉTICA DE PESQUISAS COM HUMANOS.....	95

1. INTRODUÇÃO

O semiárido, com destaque para a Caatinga, possui diferentes espécies vegetais medicinais, muitas das quais são integradas em formulações fitoterápicas como o barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*) e babosa (*Aloe vera*) utilizados no preparo de pomadas para alívio de irritações tópicas causadas por radiação solar. No entanto, no que concerne à vasta diversidade da região estudos químicos e biológicos de seus representantes ainda são escassos (BENTO et al., 2021).

As condições climáticas extremas da caatinga que incluem longos períodos de seca e altas temperaturas podem influenciar a composição química das plantas dessa região, levando ao desenvolvimento de biomoléculas com propriedades únicas através das adaptações na produção de seus metabólitos secundários e primários que têm propriedades medicinais, antioxidantes, antimicrobianas e fotoprotetiva, por exemplo. Nesse sentido, espécies como *Chenopodium ambrosioides* (mastruz) e *Ricinus communis* (mamona) são descritos na literatura pelo potencial antioxidante e fotoprotetor de suas distintas preparações (MALDONADO et al., 2019). Sendo assim, essas espécies vegetais auxiliam na ampliação de opções de biomoléculas que possam ser utilizadas em formulações fotoprotetoras/antioxidantes, uma vez que a preferência por produtos naturais sem parabenos, por exemplo, tem aumentado, devido a menor associação a reações alérgicas e riscos ambientais (RADICE et al., 2016).

Ainda, o gênero *Portulaca* que inclui plantas herbáceas, perenes ou anuais, apresentam cerca de 115 espécies com distribuição cosmopolita, sendo 13 delas relatadas no Brasil, incluindo *Portulaca oleracea* e a *Portulaca elatior*. Essa última espécie pode ser encontrada na região Nordeste do país nos estados de Pernambuco, na Bahia e em Aoreiras na Paraíba, município incluso na área geográfica de abrangência do seminário brasileiro. *P. elatior* foi relatada por produtores rurais como causadora de distúrbios gastrointestinais em bovinos (COELHO et al., 2010; SILVA et al., 2019) no entanto, o que acreditava-se ser apenas uma planta tóxica, foi reportada como um organismo vegetal fonte de importantes moléculas, Silva et al. (2019) descrevem que as pequenas raízes de *P. elatior* são ricas em uma lectina (proteína

ligadora de carboidratos) denominada PeRoL, que apresenta afinidade a trealose e possui atividade antimicrobiana frente a uma gama de patógenos, como *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Candida* spp. não apresentando toxicidade *in vitro*. Ademais, extratos de *Portulaca oleraceae* são disponibilizados na indústria farmacêutica sendo indicados para o tratamento de dermatites causadas pela fotoexposição e para inflamações, além de possuir efeito antioxidante (CHEN et al., 2022).

As lectinas, por sua vez, são proteínas que se ligam de forma específica e não covalente a carboidratos, sendo capazes de promover alterações intracelulares ao interagir com carboidratos de superfícies celulares (SANTOS et al., 2014) possuindo papel defensivo e fisiológico nas plantas. Devido suas propriedades, tanto as lectinas quanto moléculas da classe dos metabólitos secundários podem desempenhar distintos potenciais biotecnológicos (POMPEU et al., 2015; NAPOLEÃO et al., 2019; RAMOS et al., 2019). Em contrapartida, os metabólitos secundários, são moléculas produzidas pelas plantas em resposta a fatores ambientais, atuando na defesa contra predadores, radiação e escassez hídrica, por exemplo, e incluem os compostos fenólicos, alcaloides e terpenos (POLONINNI et al., 2014; AQUINO et al., 2017; SOUSA et al., 2020; BAI et al., 2021).

Sendo assim, o presente trabalho objetivou avaliar propriedades biotecnológicas de metabólitos secundários e lectina encontrados em folhas e caule de *P. elatior*. atestando a segurança do uso dessas preparações por meio da avaliação de suas toxicidades *in vivo* e *in vitro*.

1.1. OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Avaliar atividades biológicas e a toxicidade de extrato salino de folhas e caule e lectina isolada de folhas de *Portulaca elatior*.

1.1.2. Objetivos específicos

- a. Avaliar extrato salino de folhas (EF) e caule (EC) de *P. elatior* quanto à concentração proteica e teor de fenóis e flavonoides.

- b.** Determinar metabólitos secundários presentes em EF e EC por meio de cromatografia em camada delgada (CCD) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).
- c.** Avaliar as atividades antioxidante e fotoprotetora *in vitro* de EF e EC.
- d.** Avaliar a atividade hemolítica *in vitro* e toxicidade aguda oral e dérmica *in vivo* de EF.
- e.** Purificar uma lectina extraída das folhas de *P. elatior* (PeLL).
- f.** Determinar o ponto isoelétrico de PeLL e seu perfil em eletroforese em condições desnaturantes.
- g.** Avaliar o efeito de carboidratos, íons, pH e temperatura na atividade hemaglutinante de PeLL.
- h.** Avaliar alterações conformacionais de PeLL causadas por pH e temperatura através de análises fluorimétricas.
- i.** Avaliar a atividade antimicrobiana de PeLL frente a *Pectobacterium* spp. e *Candida* spp.
- j.** Avaliar a atividade hemolítica *in vitro* e toxicidade aguda oral *in vivo* de PeLL.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. *Portulaca elatior*

Portulacaceae é uma família de plantas que possui 115 espécies, atualmente agrupadas em um único gênero (*Portulaca*), e que distribui-se de forma cosmopolita, possuindo maior incidência em regiões semiáridas do Hemisfério Sul da África, Austrália e América do Sul, mas com algumas representantes no Norte das regiões árticas (SOUZA, 2009; JOLY; 2005). O gênero *Portulaca* inclui plantas herbáceas, carnosas, perenes ou anuais, possuindo como características a presença de folhas alternas, 2 sépalas, 4-5 pétalas livres, estames numerosos, ovário ínfero e fruto do tipo cápsula com deiscência longitudinal ou transversal (ROHRBACH, 1872).

No Brasil, apenas 13 espécies de *Portulaca* foram registradas, algumas já descritas no Nordeste brasileiro, como *Portulaca elatior* Mart. ex Rohrb (Figura 1). *P. elatior* é encontrada nos municípios de Juazeiro e Castro Alves, Estado da Bahia, no município de Petrolândia, Estado de Pernambuco, no município de Aroeiras, Estado da Paraíba, e em outros locais do semiárido nordestino (SOUZA, 2009; JOLY; 2005).

Figura 1 - *Portulaca elatior* coletada em Aroeiras-PB.



Fonte: A autora, 2021.

P. elatior chama atenção ao ser relatada por produtores rurais como responsável por quadros de envenenamento de animais que foram a óbito em menos de 72 horas após ingerir essa erva *in natura* (GALIZA *et al.*, 2011; OLIVEIRA *et al.*, 2017). Galiza *et al.* (2011) reportaram um surto agudo em bovinos causados pela ingestão de *P. elatior* a partir da inserção dela no cocho dos animais para que se alimentassem. Quatro de cinco bovinos foram intoxicados, dois indo a óbito. Os sinais clínicos incluíram tremores, intensa salivação, desidratação e ulceração da mucosa ruminal. Nos casos de morte, fragmentos de *P. elatior* foram achadas no rúmen. Ainda, foram relatados achados histológicos de degeneração e necrose das camadas superficiais do epitélio dos pré-estômagos, necrose e inflamação da mucosa intestinal e necrose linfoide. Oliveira *et al.* (2017) descreveram que em Aroeiras, na Paraíba, entre os meses de fevereiro e abril de 2008, 16 animais adoeceram em um rebanho de 316 caprinos. A evolução da enfermidade variou de 2 a 48 horas e 13 caprinos morreram. No exame histopatológico, observou-se degeneração e necrose das células epiteliais dos pré-estômagos com formação de vesículas e infiltrado inflamatório neutrofílico (OLIVEIRA *et al.*, 2017).

No entanto, recentemente, o que acreditava-se ser apenas uma planta tóxica, foi relatada como um organismo vegetal fonte de importantes moléculas. Silva *et al.* (2019) reportaram que as pequenas raízes de *P. elatior* são ricas em uma lectina (proteína ligadora de carboidratos) denominada PeRoL, que apresenta afinidade para trealose e possui atividade antimicrobiana frente a uma gama de patógenos, como *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Candida* spp. Esse estudo estimula a continuidade da avaliação dos potenciais biotecnológicos e biomédicos e da segurança de diferentes tipos de moléculas bioativas de *P. elatior*, tais como metabólitos primários e secundários.

2.2 Compostos bioativos de plantas

2.2.1 Obtenção de extratos vegetais

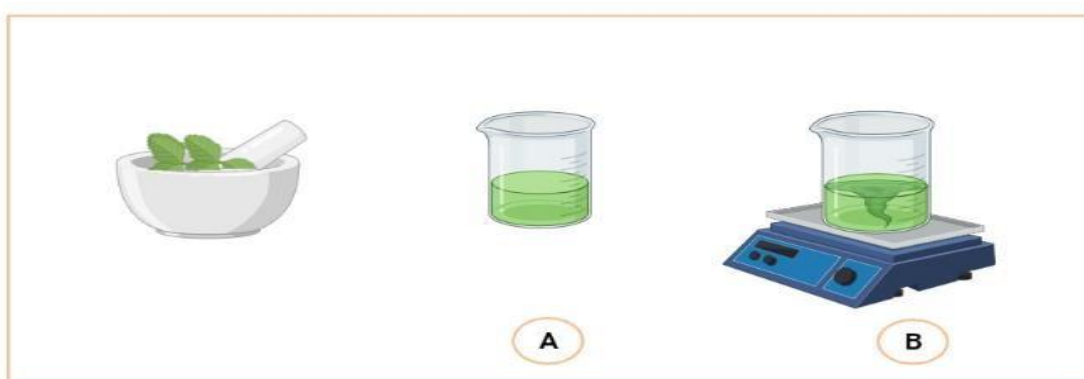
Extratos vegetais constituem misturas complexas de variadas classes de biomoléculas, podendo possuir carboidratos, proteínas, lipídeos, metabólitos secundários, entre outros. O processo de extração deve ser selecionado de acordo

com os compostos que se deseja obter, bem como de acordo com o custo e velocidade do processo. As formas manuais de preparo mais utilizadas para a produção de extratos vegetais são: maceração, percolação, decocção e infusão (ALMEIDA *et al.*, 2012).

A maceração (Figura 2) utiliza o princípio da difusão do solvente através do tecido vegetal. Nesse procedimento, o material macerado deve ficar em contato com o solvente de forma dinâmica ou estática. Na maceração estática, o material deve ser incubado com o solvente por um determinado tempo em repouso, enquanto na maceração dinâmica o macerado deve ser mantido em agitação junto ao solvente (LUCAS *et al.*, 2019a) semelhante ao método utilizado nas preparações dos extratos salinos de folha e caule de *P. elatior* onde utilizou-se a farinha de folhas após trituração para posterior homogeneização com solvente salino (NaCl 0,15) (SILVA *et al.*, 2023).

A percolação (Figura 3), diferentemente da maceração, utiliza o material vegetal fragmentado e apoiado sob um filtro onde adiciona-se o solvente em pequenas proporções continuamente. Dessa forma a solução passa pelo filtro em movimentos descendentes. A metodologia aplicada na percolação de extratos vegetais equivale ao preparo de café filtrado (MARQUES *et al.*, 2005; QU *et al.*, 2018).

Figura 2. Obtenção de extratos vegetais por maceração. (A) Maceração estática. (B) Maceração dinâmica com auxílio do agitador.



Fonte: A autora, 2021

A decocção (Figura 4) ocorre de maneira semelhante à maceração, no entanto, o solvente deve ser aquecido juntamente com a planta selecionada até que entre em ebulição. O uso desse método deve ser cuidadosamente avaliado, uma vez que a

elevada temperatura pode inviabilizar a extração de algumas moléculas em sua forma ativa, como proteínas (MAGALHÃES *et al.*, 2021).

Figura 3 - Técnica de percolação para obtenção de extratos vegetais.



Fonte: A autora, 2021

Figura 4 – Técnica de decocção para preparação de extratos vegetais.



Fonte: A autora, 2021

A infusão (Figura 5), técnica popularmente utilizada para o preparo de chás, também utiliza altas temperaturas no seu protocolo. Nessa técnica, o solvente aquecido à temperatura de ebulição é vertido sobre o material moído, sendo a mistura

deixada em repouso até que se alcance a temperatura ambiente (MAGALHAES *et al.*, 2021).

Diversos solventes podem ser empregados na preparação de extratos vegetais de acordo com as moléculas de interesse, observando sua solubilidade e demais características físico-químicas. A solubilização de uma substância química é proveniente da interação entre o soluto e a substância que o dissolve (solvente). Compostos apolares ou fracamente polares tendem a solubilizar em solventes também apolares, enquanto os compostos de alta polaridade são solúveis em solventes polares (MARTINS *et al.*, 2013). Logo, os solventes de caráter polar são utilizados na extração de terpenos, taninos e compostos fenólicos. Em contrapartida, os compostos apolares são empregados principalmente na extração de ácidos graxos, esteróis e óleos voláteis (MUHAMAD *et al.*, 2017). Além destes, alguns sais como sulfato de amônio, cloreto de sódio e cloreto de magnésio também podem ser utilizados na extração de moléculas, como proteínas (WIANOWSKA *et al.*, 2020). Assim, as preparações de extratos vegetais podem ter, por exemplo, caráter alcoólico, hidroalcoólico, aquoso (PRAYITNO *et al.*, 2020) e salino (AGUIAR *et al.*, 2019).

Figura 5 – Infusão para obtenção de extratos de materiais vegetais.



Fonte: A autora, 2021

2.2.2. Técnicas cromatográficas para caracterização e purificação

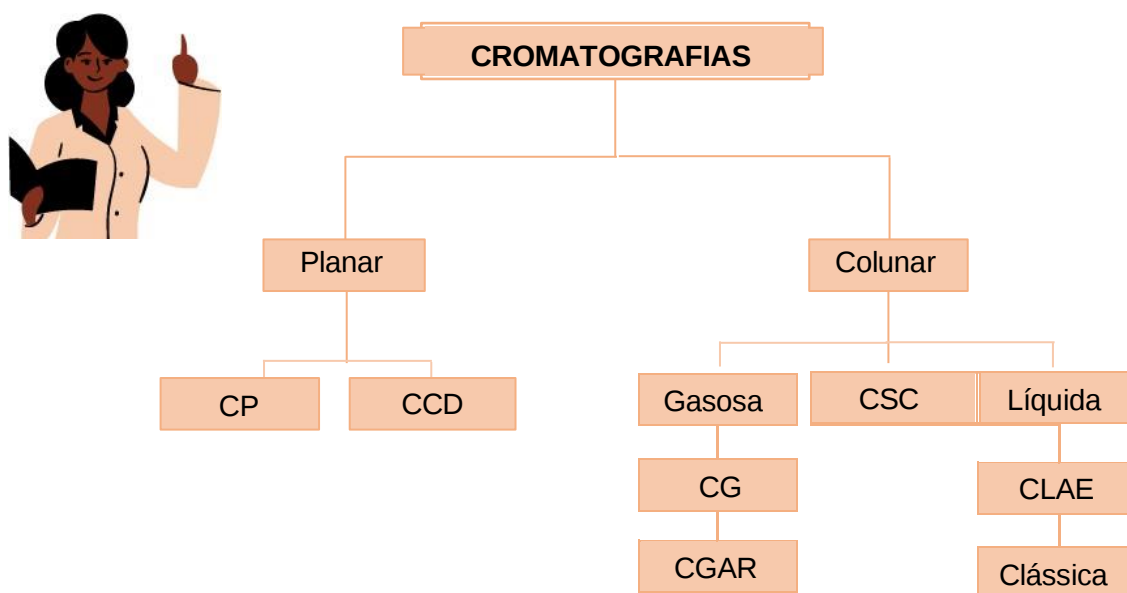
A cromatografia é um método físico-químico largamente aplicado no processo de isolamento de biomoléculas e/ou caracterização das soluções mais diversas. O princípio desta técnica está fundamentado na migração diferencial de componentes

presentes em uma mistura em relação a duas fases: móvel e estacionária. As diferentes técnicas cromatográficas, sejam elas quantitativas ou qualitativas, podem ser divididas de acordo com sua forma física, fases utilizadas, ou ainda pelo método separativo empregado na técnica de análise (Figura 6), (DEGANI *et al.*, 1998; PERES *et al.*, 2002).

Quanto à forma física, as cromatografias podem ser divididas em cromatografia planar (como a cromatografia em camada delgada) e cromatografias em coluna. As cromatografias em coluna, por sua vez, distinguem-se de acordo com a fase móvel utilizada, sendo enquadradas em cromatografia líquida ou supercrítica. As cromatografias líquidas subdividem-se em: cromatografia líquida clássica (CLC) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (PITT, 2009; AMORIM, 2019).

Pelo critério de classificação pelos métodos separativos, as cromatografias podem ser classificadas em de adsorção ou afinidade, de partição, de troca iônica e de exclusão molecular (DEGANI *et al.*, 1998).

Figura 6- Técnicas cromatográficas de acordo com sua classificação em relação a forma física e a fase móvel.



CP – Cromatografia em papel; CCD – Cromatografia em camada delgada; CG – Cromatografia gasosa; CGAR – Cromatografia gasosa de alta resolução; CLAE – Cromatografia líquida de alta eficiência

Fonte: A autora, 2021.

A versatilidade dos métodos cromatográficos oferece uma grande aplicabilidade e funcionalidade aos mesmos, que podem ser empregados na identificação de compostos através da comparação com padrões referenciados; na purificação de moléculas, separando-as de interferentes indesejados; além da caracterização de moléculas, fornecendo informações quanto a especificidade, peso molecular e estrutura (CORTES *et al.*, 2020).

A cromatografia em camada delgada (CCD) baseia-se na adsorção dos compostos à fase estacionária por interações como ligações de hidrogênio e dipolo-dipolo. A separação dos componentes da mistura ocorre em função da migração diferencial sobre uma camada delgada de adsorvente, fixo numa superfície plana, por meio de uma fase móvel (PELLIZZARO *et al.*, 2015). A fase estacionária desse método consiste em uma placa fixa (vidro ou alumínio) revestida por um adsorvente, sendo os principais sílica gel e alumina. As amostras analisadas a partir da CCD devem ser previamente dissolvidas em solventes voláteis (RIBEIRO *et al.*, 2015). As amostras são aplicadas na placa com auxílio de tubos capilares de vidros. Em seguida, a placa é introduzida em uma cuba contendo uma combinação de solventes (fase móvel/eluyente) com polaridade adequada para que a adsorção entre o(s) composto(s) de interesse e o adsorvente seja interrompida de forma gradual. A fase móvel atua conduzindo as moléculas com menor capacidade de adsorção à fase estacionária de forma mais rápida, e com isso calcula-se o "índice de retenção" (RF), que é definido como a razão entre a distância percorrida pelo componente analisado e a distância percorrida pelo eluyente até o fim da corrida (Figura 7) (SILVA *et al.*, 2009). O RF calcula-se através da seguinte equação:

$$RF = D_c/D_s$$

onde D_c = distância percorrida pelo componente da mistura e D_s = distância percorrida pelo eluyente.

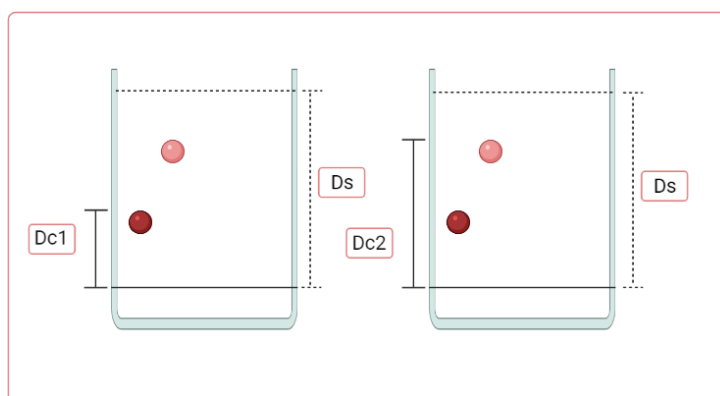
A partir do cálculo dos índices de retenção pode-se inferir as propriedades físico-químicas das amostras. No entanto, vale ressaltar que o RF oferece limitações na identificação de compostos, devendo ser utilizado apenas como guia, uma vez que diferentes analitos podem possuir o mesmo RF (OLJAČIĆ *et al.*, 2017).

Para que os compostos presentes em uma amostra sejam identificados ao fim do processo de CCD, faz-se necessária a aplicação de técnicas de revelação,

tornando possível a detecção de manchas correspondentes a cada composto presente na amostra. As técnicas de revelação podem ser divididas em dois grupos: métodos não destrutivos, que incluem a revelação por fluorescência e o contato com vapor de iodo, e métodos destrutivos, baseados na oxidação dos compostos na superfície da placa (DEGANI *et al.*, 1998).

A CCD pode ser empregada na descoberta de novas drogas, no monitoramento de sínteses químicas, na identificação de substâncias bioativas de fontes naturais, na determinação da lipofilicidade de compostos, bem como na análise de outros parâmetros físico-químicos, englobando ainda estudos quantitativos da relação estrutura-atividade e análises qualitativas e quantitativas de drogas e seus metabólitos (CIURA *et al.*, 2017).

Figura 7 - Representação da distância de corrida apresentada pelo eluente e as moléculas de interesse, onde, D_s =distância percorrida pelo eluente; D_{c1} = distância percorrida pelo componente 1 e D_{c2} = distância percorrida pelo componente 2.



Fonte: A autora, 2021

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) pode ser auxiliada por bombas de alta pressão, utilizadas na otimização do sistema de separação e identificação de compostos, uma vez que atuam diminuindo o volume morto proveniente da coluna e permitindo a obtenção de gradientes de altas concentrações dos analitos, quando eluídos na fase móvel, facilitando sua caracterização físico-química (SCHWAB *et al.*, 2019). Dessa forma, a CLAE tem sido aplicada no acompanhamento do isolamento de compostos naturais e sintéticos, bem como na avaliação de níveis de pesticidas em amostras de alimentos e recursos hídricos (NEMOTO *et al.*, 2019; KOWALSKA *et*

al., 2020), no controle de qualidade de medicamentos (GEDAWY *et al.*, 2019), entre outros.

Ainda, a CLAE possui a capacidade de realizar separações e análises quantitativas de um grande número de substâncias ao mesmo tempo. Para isso, é necessário que o método apresente alta resolução, eficiência e sensibilidade (FANALI *et al.*, 2017). Para essa técnica analítica, os detectores desempenham importantes funções, uma vez que possuem a capacidade de examinar continuamente o material eluído gerando um sinal característico para cada substância. Os detectores fluorescentes e ultravioleta são os mais empregados na CLAE (DEGANO *et al.*, 2020).

Já a cromatografia por afinidade é uma técnica difundida na separação de compostos e isolamento de macromoléculas, a partir da utilização de uma matriz fixa, porosa e rica em grupos funcionais adequados pelos quais as moléculas de interesse possuem afinidade reversível. Essa técnica pode ser utilizada, por exemplo, na purificação de proteínas. Durante a passagem da amostra, os componentes da mistura são distribuídos de um modo que fiquem seletivamente retidos na fase estacionária, enquanto os demais interferentes migram de forma livre (ROMERO *et al.*, 2017). Diferentes agentes ligantes e suportes sólidos (matrizes) são empregados na cromatografia de afinidade. Ao otimizar propriedades como especificidade, seletividade, reprodutibilidade e química da conjugação de ligantes, tal ferramenta pode atingir altos rendimentos e graus de pureza, além do equilíbrio entre custo e eficácia do método (ARORA *et al.*, 2017).

As propriedades desejadas dos materiais de suporte incluem insolubilidade no sistema tampão utilizado, adaptabilidade às características de fluxo apropriadas, disponibilidade de área de superfície adequada e fácil ativação para o acoplamento do ligante. Além disso, eles devem se distribuir na coluna de forma uniforme, ter porosidade e serem hidrofílicos, além de apresentar estabilidade nas características físico-químicas selecionadas para um protocolo de purificação (ARORA *et al.*, 2017). Dentre os suportes amplamente utilizados na preparação de fases fixas destacam-se os inorgânicos (fibras de vidro, sílica e TiO₂); os sintéticos, representados principalmente por poliestirenos, polimetacrilato e acrilamida; e os naturais como agarose (Sephacrose), dextranos (Sephadex), celulose e quitina (GUO *et al.*, 2019; ROBERTS *et al.*, 2009).

Os processos de isolamento de compostos auxiliam como ferramentas no desenvolvimento de novos fármacos criando a possibilidade de avaliação deles

quanto às suas possíveis atividades biológicas, além de facilitar a comparação entre o desempenho de moléculas puras com sua solução matriz, tais como os extratos de origem vegetal.

2.2.3 Metabólitos secundários de plantas

O metabolismo pode ser entendido como um conjunto de reações químicas que ocorrem nas células de seres vivos, animais ou vegetais (SÁ-FILHO *et al.*, 2021). Em plantas, os metabólitos primários são compostos que se originam a partir de reações envolvidas diretamente nos processos de crescimento, desenvolvimento e reprodução vegetal e incluem proteínas, aminoácidos, carboidratos, lipídeos, dentre outros. Em contrapartida, os metabólitos secundários se originam a partir de compostos que derivam do metabolismo primário e atuam em resposta a fatores externos, como ataques de pragas, radiação, escassez hídrica, sendo fundamental para a persistência das plantas no meio ambiente (TAIZ *et al.*, 2017; YANG *et al.*, 2018).

Os metabólitos secundários podem ser sintetizados a partir de quatro vias metabólicas: via do ácido chiquímico, via do ácido mevalônico (MEV), via do acetato-malonato e via do metileritritol fosfato (MEP), as quais originam as três principais classes de metabólitos secundários: compostos fenólicos, terpenos e alcaloides (DEWICK, 2009; TAIZ *et al.*, 2017). Estudos sobre esses compostos têm se tornado cada mais relevantes devido aos seus efeitos biológicos, como potencial antioxidante, antimicrobiano, anticâncer, anti-inflamatório, fotoprotetor, dentre outros (HUSSEIN & EL-ANSSARY, 2019; LIMA *et al.*, 2020).

Os compostos fenólicos derivam do ácido chiquímico e do ácido mevalônico e são caracterizados pela presença de um ou mais grupos fenol e podem variar desde uma estrutura com apenas um anel aromático a uma estrutura complexa e, por isso, são categorizados em diversas classes, dentre elas, os fenóis, flavonoides, cumarinas, taninos e outros (TAIZ *et al.*, 2017).

Os flavonoides constituem a maior classe de compostos fenólicos, sendo amplamente distribuídos no reino vegetal e majoritariamente encontrados nas raízes, folhas e frutos das plantas (LEÃO *et al.*, 2017). Podem ser encontrados na natureza em diversas formas estruturais, já que são subdivididos em seis classes: flavonas, flavanonas, isoflavonas, flavonóis, antocianinas e flavonóis (SANTOS &

RODRIGUES, 2017). Diversos estudos têm apontado para as propriedades farmacológicas desses compostos, tais como anti-inflamatória, antitumoral, antimicrobiana, além da propriedade antioxidante. A atividade antioxidante dos flavonoides é conferida pela presença de radicais fenólicos, os quais atuam principalmente na neutralização de radicais livres por meio da doação de elétrons. Essas moléculas também apresentam propriedade fotoprotetora, que é atribuída à presença de grupos capazes de absorver a radiação UV, denominados cromóforos (JOSÉ *et al.*, 2016; KOWALSKI *et al.*, 2020; LOURIDO *et al.*, 2018; VERRUCK *et al.*, 2018). Rocha-Filho *et al.* (2020) associaram a capacidade dos extratos de folhas e ramos de *Jacaranda rugosa* de sequestrar os radicais DPPH e ABTS⁺ com a presença de flavonoides. Como também, um estudo realizado por Silva (2015), relacionou a ação fotoprotetora do extrato salino de folhas de *Libidibia ferrea* à presença dos flavonoides e fenóis na amostra.

Os alcaloides são compostos orgânicos que apresentam pelo menos um átomo de nitrogênio em seu anel e são relatados como portadores de diversas propriedades farmacológicas, tais como propriedades antimicrobiana, anti-inflamatória, analgésica, dentre outras (HUSSEIN & EL-ANSSARY, 2019; MAGALHÃES *et al.*, 2021).

Os terpenos são os principais constituintes dos óleos essenciais e conferem às plantas proteção contra herbívoros e patógenos, sendo considerados o maior e mais diversificado grupo de compostos secundários (BELÉM *et al.*, 2021). A literatura relata diversas propriedades biológicas desses compostos, dentre elas, atividades antimicrobiana, antioxidante, fotoprotetora, anti-inflamatória e imunomoduladora (FIEDOR & BURDA, 2014; ANDRADE-OCHOA *et al.*, 2015; YUAN *et al.*, 2015; DOWNER, 2020).

Fabri *et al.* (2011) relacionaram a capacidade antioxidante (pelo sequestro do radical DPPH) do extrato das folhas de *Baccharis dracunculifolia* com a presença de terpenos e flavonoides em sua composição fitoquímica. Do mesmo modo, o extrato das folhas de *Erythrina velutina* apresentou atividade fotoprotetora e antioxidante, sendo estas associadas à presença de terpenos, flavonoides, dentre outros compostos (RAMOS *et al.*, 2020).

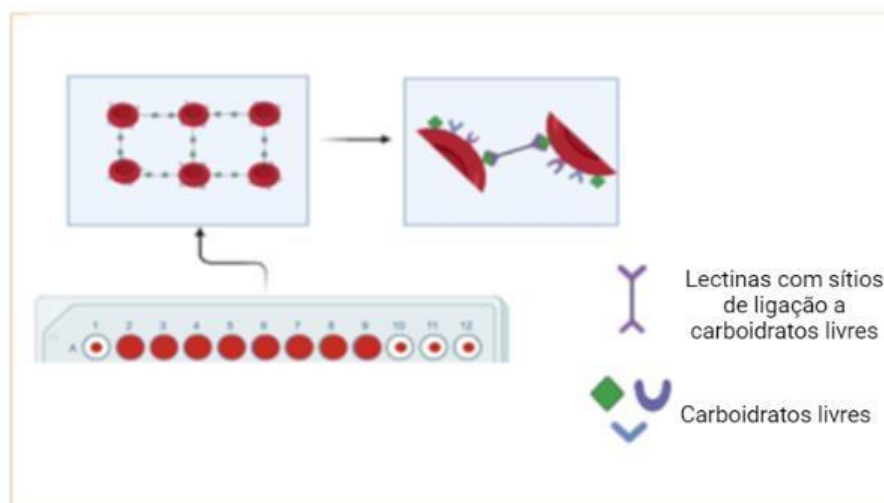
2.2.4 Lectinas

Lectinas são proteínas de origem não-imunológica que se ligam de forma seletiva e reversível a carboidratos, através de pontes de hidrogênio ou interações de van der Waals, sem promover alterações na estrutura covalente do ligante (SHARON, 1998; FREIRE, 2015). Lectinas estão amplamente distribuídas na natureza, sendo encontradas em animais, vegetais e micro-organismos. Nas plantas já foram detectadas nas sementes, sendo reportadas, por exemplo, nas espécies *Cicer arietinum* (GAUTAM *et al.*, 2018), *Ricinus communis* (VASANTHY *et al.*, 2021) e *Moringa oleifera* (OLIVEIRA *et al.*, 2020). Estão presentes ainda em raízes (SILVA *et al.*, 2019), folhas (SILVA *et al.*, 2021), flores (SANTOS *et al.*, 2009; MENTO *et al.*, 2013), cascas e rizomas (COSTA *et al.*, 2018) entre outros órgãos e tecidos.

Podem ser detectadas através de ensaio de hemaglutinação, que consiste na incubação da lectina em diferentes concentrações com eritrócitos, em placas de microtitulação ou tubos de ensaio. O ensaio é geralmente feito na presença de cloreto de sódio em baixas molaridades que, além de atuar como controle negativo para aglutinação, age ainda protegendo as células contra lise celular ou alterações osmóticas danosas durante o experimento, (Figura 8). Os domínios de reconhecimento a carboidratos (DRC) das lectinas ligam-se aos carboidratos de superfície dos eritrócitos promovendo a formação de uma malha de aglutinação impedindo a precipitação no fundo da placa de microtitulação (SPACKMAN *et al.*, 2020). Os eritrócitos usados podem ser tratados quimicamente ou enzimaticamente aumentando o tempo de estocagem e a sensibilidade das células à lectina e outros agentes hemaglutinantes (COELHO & SILVA, 2000). Por exemplo, AVRAMEAS *et al.* (1969), ao utilizarem glutaraldeído no tratamento de eritrócitos utilizados em procedimentos de hemaglutinação, mostraram que as células tratadas com esse reagente não perderam sua sensibilidade à hemaglutinação mesmo após liofilizadas. Ainda, de acordo com ABAY *et al.* (2019), o glutaraldeído é largamente empregado na fixação das células vermelhas do sangue.

Para comprovar que o agente hemaglutinante é uma lectina, essa aglutinação deve ser inibida na presença de carboidratos livres, os quais são incubados com a amostra antes da adição das células, de forma que eles se liguem aos DRCs ocupando-os e impedindo a ligação aos carboidratos de superfície dos eritrócitos (MOURA, *et al.* 2016).

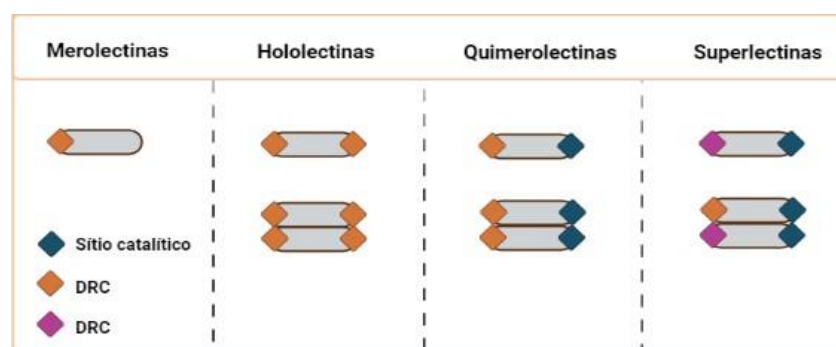
Figura 8- Ensaio de detecção de lectinas através da aglutinação de eritrócitos.



Fonte: A autora, 2020

As lectinas podem ser classificadas em merolectinas, hololectinas, superlectinas e quimerolectinas (Figura 9) (PEUMANS; VAN DAMME *et al.*, 1998). As merolectinas possuem apenas um domínio de ligação a carboidrato e, por serem monovalentes, são incapazes de precipitar glicoconjugados ou aglutinar células. A heveína, uma lectina ligadora de quitina extraída do látex da seringueira (*Hevea brasiliensis*), é uma merolectina (VAN PARJIS *et al.*, 1991). As hololectinas são dotadas de no mínimo dois sítios de ligação a carboidratos, sendo eles idênticos ou muito semelhantes. Por serem divalentes ou multivalentes, elas podem aglutinar células e precipitar glicoconjugados (PEUMANS *et al.*, 1995).

Figura 9 - Classificação estrutural de lectinas de plantas em merolectinas, hololectinas, quimerolectinas e superlectinas.



DRC- Domínio de ligação a carboidratos. **Fonte:** A autora, 2021

As quimerolectinas são constituídas por um ou mais DRC e um domínio com atividade catalítica ou outra função biológica que age independente do(s) domínio(s) de ligação a carboidratos. De acordo com o número de sítios de ligações, as quimerolectinas podem agir como hololectinas ou merolectinas. A ricina, que possui dois domínios de ligações a carboidratos e um domínio para inativação de ribossomos, comporta-se como hololectina (PEUMANS *et al.*, 1998). As superlectinas possuem pelo menos dois DRC, diferenciando-se das hololectinas por reconhecerem açúcares estrutural e funcionalmente diferentes (VAN DAMME, *et al.*, 1998; FREIRE *et al.*, 2015).

A purificação de proteínas é um processo essencial quando se deseja avaliar suas características e determinar suas propriedades e atividades, envolvendo diversas etapas, sendo a aplicação dos métodos clássicos para separação de proteínas variável de acordo com propriedades como tamanho, carga e propriedades de ligação (BOONER, 2007; BURGUESS, 2009; DUTTA *et al.*, 2022).

O processo de purificação de lectinas inicia-se pela extração dessas biomoléculas da estrutura da planta que se deseja analisar. Para isso, o material vegetal deve ser triturado ou macerado, adicionado a uma solução de extração e pode ser submetido à agitação constante em tempo e temperatura pré-estabelecidos. Por fim, o material obtido passa por uma filtração e centrifugação, sendo o sobrenadante obtido denominado de extrato bruto (WANG *et al.*, 2018).

A partir da obtenção desse extrato bruto, a lectina pode ser parcialmente purificada por meio de um fracionamento utilizando solventes orgânicos ou solução salina, sendo a adição de sal o método mais utilizado, pois mantém a conformação nativa das proteínas após o processo. O método de fracionamento utilizando um sal é chamado de *salting out*, sendo o sulfato de amônio o mais utilizado. A adição do sulfato de amônio ao extrato remove a camada de solvatação das proteínas, aumentando a interação entre as próprias proteínas, possibilitando a formação de precipitado dessas biomoléculas (WINGFIELD, 2016; PROCÓPIO *et al.*, 2017).

As lectinas podem ser isoladas através de técnicas cromatográficas, tais como cromatografia de afinidade (especificidade de ligação), cromatografia de troca iônica (separa de acordo com a carga) e cromatografia de gel filtração (separa de acordo com tamanho) (QU *et al.*, 2015; FREITAS *et al.*, 2019).

A cromatografia de afinidade tem sido bastante utilizada na purificação de lectinas e se baseia na afinidade de ligação dessas biomoléculas a uma matriz fixa

que possui grupos ligantes pelos quais as proteínas de interesse possuem afinidade. Durante o processo, a fase móvel (amostra/extrato) passa pela fase estacionária (matriz), de modo que a proteína de interesse se liga à matriz e fica retida nela, enquanto os demais componentes são eluídos junto com o tampão de corrida e migram livremente pela coluna. Logo em seguida, para que a proteína de interesse seja removida da matriz, utiliza-se como eluente uma solução de uma molécula pela qual a proteína possua maior afinidade; uma solução concentrada do mesmo ligante preso à matriz, só que agora na forma livre; ou promove-se mudanças nas condições de pH e força iônica do meio, a fim de desestabilizar as ligações da proteína à matriz (SÁ *et al.*, 2009, XIU *et al.*, 2015).

A determinação da concentração proteica na amostra consiste em uma das etapas do processo de purificação, sendo o método de Lowry *et al.* (1951) amplamente utilizado. Este é baseado na redução do reagente de Folin-Ciocalteu (fosfomolibdato e fosfotungstato) na presença de proteínas e do catalisador Cu^{+2} , produzindo um composto com absorção a 720 nm. A quantificação das proteínas presentes na amostra é determinada a partir da leitura da absorbância a 720 nm em comparação com uma curva padrão de diferentes concentrações conhecidas de uma proteína.

Quando se deseja investigar atividades biológicas de uma proteína, é importante caracterizá-la. Uma técnica importante para caracterização de lectinas é a eletroforese em gel de poliacrilamida, que se baseia na migração de proteínas carregadas em um campo elétrico. A técnica consiste na adição da amostra em poços no topo do gel, de modo que as proteínas, quando aplicado um campo elétrico, migram através do gel em um único sentido. Após o processo de migração, as proteínas podem ser visualizadas tratando o gel com um corante como, por exemplo, o azul de Coomassie. Essa técnica permite estimar massa molecular em condições desnaturantes com adição de SDS (dodecil sulfato de sódio), e número de subunidades (NELSON; COX, 2014; AZARKAN *et al.*, 2018).

Através do ensaio de hemaglutinação, é possível realizar a caracterização da especificidade de ligação a carboidratos (por meio do ensaio de inibição), a determinação da estabilidade da atividade hemaglutinante frente a variações de temperatura, pH e presença de íons (PAIVA *et al.*, 2013, PROCÓPIO, 2018).

A análise fluorimétrica é uma metodologia utilizada durante o processo de caracterização de proteínas e se baseia na fluorescência, fenômeno no qual há uma emissão de luz em consequência da excitação e absorção de energia pelas

biomoléculas (VILASBOAS *et al.*, 2010). Essa técnica permite avaliar a conformação das proteínas quando expostas a diferentes condições físico-químicas e pode investigar tanto a fluorescência intrínseca (a partir da análise de aminoácidos aromáticos da cadeia polipeptídica que alteram o seu padrão de emissão de fluorescência de acordo com as condições do ambiente químico que se encontram), como também através da análise da fluorescência intrínseca de sondas fluorescentes (ex: Bis-ANS) que se ligam à cadeia polipeptídica e permitem acompanhar alterações durante o processo de desnaturação, uma vez que mudanças estruturais nas proteínas causam alterações no ambiente químico da sonda e, portanto, na sua fluorescência (VAN DE WEERT & STELLA, 2011; FARIAS, 2020).

Muitas são as funções das lectinas vegetais, podendo estar envolvidas na proteção contra insetos e patógenos, transporte e armazenamento de carboidratos, reserva de aminoácidos e regulação de crescimento. Dentre as atividades de defesa desempenhadas pelas mesmas estão: atividade antifúngica, atividade inseticida e efeito antinutricional (SILVA *et al.*, 2019; TORRES *et al.*, 2019). As lectinas também são ferramentas importantes no avanço da Biotecnologia ao apresentarem propriedades como atividades anti-inflamatória e pró-inflamatória (ZHAO *et al.*, 2020), efeito antiproliferativo em células tumorais, efeito antidepressivo em ratos (ABREU *et al.*, 2018) ação antibacteriana, ação antifúngica, entre outras (PROCÓPIO *et al.*, 2017).

A atividade antimicrobiana de lectinas frente a fungos está relacionada com sua capacidade de ligação a glicoconjugados e polissacarídeos de parede e membrana celulares, inibindo o desenvolvimento do micro-organismo através da interferência na homeostase celular, germinação de esporos e crescimento em geral, podendo culminar em sua morte (PAIVA *et al.*, 2010). Entre os mecanismos de ação das lectinas frente a fungos do gênero *Candida* estão a capacidade de induzir apoptose e necrose, de inibir a produção de biofilme, bem como de induzir o estresse oxidativo, alterar o potencial de membrana celular, causar danos lisossomais, entre outros (SILVA *et al.*, 2020).

Um dos principais constituintes da parede celular dos fungos é a quitina. Sendo assim, lectinas ligadoras de quitina podem atuar inibindo o crescimento celular fúngico. A proteína ligadora de quitina Mo-CBP2, extraída das sementes de *Moringa oleifera*, inibiu o crescimento de *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis* e *Candida krusei*. Tal inibição foi atribuída a mecanismos como formação

de espécies reativas de oxigênio, aumento da permeabilidade da membrana celular, e aumento de atividade DNásica (NETO *et al.*, 2015).

WSMoL, lectina ligadora de quitina também isolada de sementes de *M. oleifera*, inibiu o crescimento de *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei* e *C. parapsilosis* com concentração mínima inibitória (CMI) de 20 µg/mL. A lectina também apresentou ação fungicida. WSMoL induziu apoptose e necrose das células fúngicas, bem como causou hiperpolarização da membrana mitocondrial após 12 h de tratamento, seguida de despolarização após 24 h (SANTOS *et al.*, 2021).

A lectina PgTeL extraída da sarcotesta da romã (*Punica granatum*), que possui afinidade por quitina, demonstrou atividade antifúngica frente a cepas de *C. albicans* e *C. krusei* com CMI e CMF (concentração mínima fungicida) de 25 µg/mL e 50 µg/mL respectivamente. PgTeL induziu estresse oxidativo e agiu danificando as células das leveduras induzindo seu extravasamento, por fim culminando na morte desses patógenos. A proteína não demonstrou toxicidade frente a células mononucleares do sangue periférico (PBMCS) humano (SILVA *et al.*, 2018).

A lectina da raiz de *Portulaca elatior* (PeRoL), ligadora de trealose, induziu a morte celular de *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* e *C. tropicalis*, com CMI de 16 µg/mL para todas as espécies citadas. Assim como PgTeL, não apresentou sinais de citotoxicidade frente a PBMCS; além disso, não demonstrou atividade hemolítica *in vitro* (SILVA *et al.*, 2019). CasuL, extraída a partir de folhas de *Calliandra surinamensis*, apresentou atividade antifúngica contra *Candida krusei*, causando alterações morfológicas como rompimento da parede celular e redução do conteúdo citoplasmático (PROCÓPIO *et al.*, 2017).

Quanto às atividade antibacteriana, Paiva *et al.* (2010) relataram que a atividade de lectinas contra bactérias gram-positivas e gram-negativas é desencadeada por meio da interação dessas moléculas com componentes das paredes celulares e membranas, incluindo ácidos teicoico e teicurônico, peptidoglicanos, lipopolissacarídeos e ácido murâmico. De acordo com Coelho *et al.* (2018), a ligação de uma lectina aos compostos da parede bacteriana pode inibir seu desenvolvimento interferindo na homeostase celular, desintegrando a parede celular e causando a morte do patógeno por eventos que incluem o extravasamento celular.

Ferreira *et al.* (2011) relataram que WSMoL inibiu o crescimento de cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, apresentando CMI de 7,8 e 500 µg/mL respectivamente. A lectina em questão foi bactericida para *S. aureus*. Ainda,

CORIOLOANO *et al.* (2020) reportaram a atividade bactericida e bacteriostática de WSMol frente a *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae* e *Serratia* sp. De acordo com os autores a lectina foi capaz de induzir o extravazamento celular das bactérias. Além disso, WSMoL diminuiu a atividade das proteases extracelulares das cepas de bactérias gram-negativas.

De acordo com CHARUNGCHITRAK *et al.* (2011) a lectina das sementes de *Archidendron jiringa* apresenta atividade antibacteriana, apresentando CMI de 0,227 e 0,0567 mg/mL para *Bacillus subtilis* e *Staphylococcus aureus*, respectivamente.

Ao avaliar a atividade antimicrobiana de PgTeL, Silva *et al.* (2019) reportaram o efeito bacteriostático e bactericida frente a *E. coli* não-resistente, bem como vários isolados resistentes produtores de beta-lactamases. Em estudo anterior, Silva *et al.* (2016) descreveram a atividade bacteriostática dessa lectina contra cepas *Aeromonas* sp., *Enterococcus faecalis*, *E. coli*, *Klebsiella* sp., *S. aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Staphylococcus saprophyticus* com CMI entre 3 e 50 µg/mL.

CasuL apresentou efeito bacteriostático frente a *S. saprophyticus* e *S. aureus* (isolados não resistentes e resistentes à oxacilina), demonstrando ainda a capacidade de reduzir a formação de biofilme por essas espécies (PROCÓPIO *et al.*, 2017).

2.3 Fotoexposição e estresse oxidativo

2.3.1 Estresse oxidativo

Os radicais livres podem ser de origem orgânica e/ou inorgânica, contendo dois ou mais elétrons não pareados, configuração que os torna altamente instáveis. A geração de radicais livres é necessária para manutenção de alguns processos fisiológicos, atuando como mediadores na transferência de elétrons e na geração de ATP, agindo ainda nos mecanismos de defesa durante processos infecciosos e na ativação de genes. Porém, a produção excessiva dos mesmos pode conduzir a danos no organismo (SHAMI *et al.*, 2004; DESHMUKH *et al.*, 2021). O estresse oxidativo consiste no desequilíbrio entre moléculas oxidantes e antioxidantes, com geração contínua de radicais livres em detrimento de sua remoção, resultando na oxidação de biomoléculas e subsequente perda de funções biológicas celulares e teciduais (VELLOSA *et al.*, 2021). As alterações relacionadas ao estresse oxidativo envolvem a

peroxidação lipídica, degradação e deformação de proteínas e alterações no DNA (LIGUORI *et al.*, 2018).

Dessa maneira, o organismo utiliza diferentes mecanismos endógenos no sistema de defesa frente a formação de radicais livres e possível estresse oxidativo, como a quelação de metais, transferência de elétrons únicos bem como a transferência de átomos de hidrogênio suprimindo a formação exacerbada dessas moléculas. Ainda, esses sistemas podem agir a partir da captura e eliminação de radicais livres (MIRONCZUK-CHODAKOWSKA *et al.*, 2018).

Dentre as classes de espécies reativas destacam-se as EROs (espécies reativas de oxigênio) e as ERNs (espécies reativas de nitrogênio). As EROs originam-se a partir do metabolismo do oxigênio no processo de fosforilação oxidativa, uma vez que pode haver um desvio de parte dessa molécula das mitocôndrias para outras vias metabólicas. Sendo assim, por meio da redução univalente ou interação do oxigênio com íons ferro (Fe^{2+}), cobre (Cu^+) ou ainda o óxido nítrico (NO), há a formação de espécies reativas como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), radical hidroxila ($\text{OH}^\cdot$), radical superóxido ($\text{O}_2^\cdot$), peroxinitrito ($\text{ONOO}^\cdot$), entre outros (FERREIRA, 2007; BRUSKOV *et al.*, 2021). O óxido nítrico (NO) é convertido em nitrito e nitrato na maioria dos fluidos do corpo, inclusive no plasma. No entanto, na presença de oxigênio esses compostos podem dar origem ao peroxinitrito citado anteriormente (VELLOSA *et al.*, 2021). Visando suprimir tais efeitos, os compostos antioxidantes atuam, principalmente, por meio de três mecanismos: transferência de átomos de hidrogênio; transferência de elétron único e por meio da quelação de metais (SANTOS-SANCHEZ *et al.*, 2019).

Os mecanismos de geração endógena de radicais livres ocorrem, principalmente, nas mitocôndrias, membranas celulares e citoplasma, podendo ser favorecidos na presença de íons ferro e cobre. Em condições fisiológicas, os organismos aeróbicos metabolizam cerca de 85% do oxigênio consumido na mitocôndria por meio da cadeia transportadora de elétrons. Em contrapartida, os outros 15% são utilizados por diversas enzimas, como oxidases, em reações químicas de oxidação. Nesse sentido, a mitocôndria é a principal fonte geradora de radicais livres endógenos (BARBOSA *et al.*, 2010; TEODORO *et al.*, 2019). As fontes exógenas de radicais livres são tabagismo, quimioterápicos, exposição aos raios UV's entre outros (IFEANYI *et al.*, 2018).

A exposição da pele às radiações ionizantes e raios UV é responsável por alterações do DNA mediante a capacidade de adicionar ligações duplas nas bases heterocíclicas. Tais reações de adição podem induzir a formação de radicais peroxil, utilizados como marcadores de dano oxidativo ao DNA. A ação dos raios UV sobre a pele implica em alterações tanto morfológicas quanto químicas. Algumas alterações na epiderme envolvem espessamento da camada espinhosa e retificação da junção dermo-epidérmica. Os queratinócitos, por sua vez, demonstram resistência à apoptose, acumulando alterações no DNA e proteínas, facilitando o processo de carcinogênese (MANICA *et al.*, 2017).

2.3.2 Radiação ultravioleta (UV) e seus efeitos

A radiação solar exerce benefícios à saúde humana, desde que a exposição ocorra de maneira cautelosa, desempenhando importante função na produção de vitamina D, auxiliando na regulação dos níveis de cálcio e fósforos dos ossos. Além disso, os raios solares estimulam a produção de serotonina, podendo atuar na prevenção da depressão e melhoria do sono. Estudos relatam que a exposição ao sol pode desencadear também um aumento na produção de melatonina (REZENDE *et al.*, 2016; LUCAS *et al.*, 2019). No entanto, a pele é o órgão mais afetado pelos efeitos nocivos atrelados à radiação ultravioleta. Assim, a fotoexposição exacerbada tem sido associada com envelhecimento precoce, desenvolvimento de acne, melasmas, mutações gênicas e cânceres de pele. (MOURA *et al.*, 2012; MAQUEDA *et al.*, 2020).

Os raios ultravioletas podem ser divididos de acordo com o comprimento de onda que possuem, além da sua capacidade de penetração, em: UVA (320 - 400 nm); UVB (290- 320 nm) e UVC (200-290 nm), sendo o comprimento de onda diretamente proporcional à capacidade da radiação UV em penetrar na pele (MOHANIA *et al.*, 2017).

Os raios UVA são responsáveis pela pigmentação da pele através da ativação da melanina na epiderme. No entanto, os raios UVA associam-se também ao envelhecimento precoce da pele, uma vez que seu comprimento de onda favorece a penetração na derme afetando negativamente a elasticidade natural desse órgão, bem como o agravamento de fotodermatoses como erupções polimorfa e lúpus eritematoso. Além disso, a radiação UVA pode desencadear a redução de células de

Langerhans, que participam do sistema de defesa do indivíduo, induzindo o aumento de células inflamatórias presentes na derme (BALOGH *et al.*, 2011).

A exposição à radiação UVB está intrinsecamente ligada ao desenvolvimento de respostas agudas como queimaduras, eritemas, edemas e espessamento da derme e epiderme. Dentre os efeitos crônicos de raios UVB observa-se a imunossupressão e o desenvolvimento de câncer de pele. Como os raios UVB são muito energéticos, podem gerar EROs, tais como o ânion superóxido, o peróxido de hidrogênio, e o radical hidroxila nas células expostas (OLIVEIRA *et al.*, 2012; DEUSCHLE *et al.*, 2019).

A radiação UVC é em sua maioria retida na camada de ozônio fazendo com que os seres vivos sejam atingidos apenas por uma porção muito pequena dessa. Porém, vale ressaltar que os raios UVC são extremamente nocivos ao ser humano, possuindo efeitos mutagênicos e carcinogênicos expressivos (SIQUEIRA *et al.*, 2015).

A literatura relata que a ação de raios UV sobre a pele acarreta uma série de reações químicas e morfológicas como, por exemplo, o espessamento da camada espinhosa e o aumento da resistência dos queratinócitos ao processo de apoptose, o que facilita as alterações no DNA celular (SGARBI *et al.*, 2007; BARNARD *et al.*, 2020).

A sensibilidade da pele frente aos efeitos nocivos da radiação solar não afeta uniformemente todos os tipos de pele, sendo observadas variações de acordo com o fototipo de cada indivíduo. Nesse sentido, existem classificações quanto aos diferentes fototipos de pele que permitem prever o seu comportamento mediante a radiação, o que é utilizado não apenas para orientar as medidas fotoprotetivas individuais, mas também para auxiliar no planejamento de protocolos de tratamentos (LI *et al.*, 2019). A classificação mais utilizada para essa finalidade é a "Fitzpatrick skyn type" que considera seis tipos de pele de acordo com a cor e histórico de danos associadas a exposição solar, sendo essas: pele branca pálida, branca, morena clara, morena moderada, morena e pele negra (RAVNBAK *et al.*, 2010).

2.3.3. Avaliação da atividade antioxidante *in vitro*

Antioxidantes são compostos dotados da capacidade de retardar ou inibir por completo o processo de oxidação. Os antioxidantes podem ser de caráter sintético e

natural, sendo esses últimos encontrados, por exemplo, em frutas e legumes (RIBEIRO *et al.*, 2019). A determinação da capacidade antioxidante permite reconhecer o potencial protetor de compostos isolados ou de misturas frente ao processo de oxidação. Devido à diversidade de métodos com fundamentos variados, não se indica utilizar apenas um princípio avaliativo no que diz respeito à mensuração de tal atividade (RIBEIRO *et al.*, 2011). Alguns dos métodos analíticos utilizados *in vitro* para determinação de atividade antioxidante incluem os ensaios de capacidade antioxidante total (CAT) e de captura dos radicais 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) e ácido 2,2-azino-bis(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfônico (ABTS⁺). Esses métodos são relativamente simples, rápidos e oferecem um bom custo-benefício.

A avaliação da CAT é realizada utilizando o composto fosfomolibdênio. O complexo fosfomolibdênio possui coloração amarela e é formado pela reação da solução Na₃PO₄ (fosfato de sódio), com H₂SO₄ (ácido sulfúrico) e (NH₄)₆Mo₇O₂₄.4H₂O (molibdato de amônio). Esse composto, na presença de substância antioxidante, tem a sua coloração amarela modificada à medida que ocorre a redução de molibdênio (VI) a molibdênio (V), havendo a formação de um complexo de coloração verde. Essa mudança na cor é avaliada por meio da medida da absorbância a 695 nm (WANG *et al.*, 1996; UNTEA *et al.*, 2018).

O DPPH é um radical orgânico de nitrogênio estável que possui coloração violeta com espectro de absorção UV-vis máxima em 515 nm. Esse radical atua simulando as EROs e quando na presença de compostos antioxidantes recebe elétrons que se pareiam com os seus, sendo reduzido e apresentando coloração amarelada. A atividade antioxidante dos compostos é medida por meio da espectrofotometria com avaliações no comprimento de onda 517 nm. À medida que o antioxidante vai inativando os radicais por meio da doação de elétrons, uma diminuição da intensidade da coloração violeta é observada (PAZINATTO *et al.*, 2008; KANDI *et al.*, 2019).

O ABTS⁺ é um cromóforo estável, apresenta alta solubilidade em água e absorbância máxima a 645 nm, 734 nm e 815 nm. A obtenção desse radical se dá a partir de um precursor, o ABTS (ácido 2,2-azino-bis(3-etilbenzotiazolin) -6-sulfônico), através de reações enzimáticas ou químicas. Para isso, adiciona-se o perssulfato de potássio e água à solução de ABTS, formando um composto de coloração azulada (radical ABTS⁺), que, quando em contato com agentes antioxidantes, perde a sua coloração original e sofre redução. Pela capacidade de ser solubilizado em meios

orgânicos e aquosos, esse radical pode ser utilizado na análise de compostos de natureza lipofílica e hidrofílica. A leitura do experimento se dá por meio da mensuração da absorbância em 734 nm em espectro UV-Vis (OLSZOWY *et al.*, 2018).

A literatura relata diversas fontes de origem natural com capacidade antioxidante. De acordo com Lazzarotto-Figueiró *et al.* (2021), o extrato etanólico das sementes de *Eugenia uniflora*, popularmente conhecida como pitanga, apresentou CI_{50} (concentração mínima necessária para inibir em 50% o agente oxidante) de 23,81 $\mu\text{g/mL}$ quando avaliado pelo método do DPPH. Já o extrato aquoso das folhas de *Morus nigra*, amoreira preta, apresentou CI_{50} de 0,12 mg/mL pelo método de DPPH (SCHAFRANSKI *et al.*, 2019). A atividade antioxidante dos extratos aquosos de folhas de *M. nigra* foi corroborada por Dalmagro *et al.* (2018) ao fazerem uma análise sazonal dessa espécie vegetal. Goorani *et al.* (2018) demonstraram atividade antioxidante do extrato aquoso de *Falcaria vulgaris* através da avaliação de sequestro de DPPH. De acordo com Guiné *et al.* (2020), ao avaliar a atividade antioxidante de extratos da fruta morango (*Fragaria ananassa*) formulados à base de água + etanol e água + acetona, quanto maior a concentração de compostos fenólicos totais e antocianinas, maior a atividade antioxidante.

O extrato da microalga *Scenedesmus obliquus* apresentou 88% de capacidade de redução do processo oxidativo quando avaliado pelo método DPPH (SILVA *et al.*, 2021b). Além disso, Xavier *et al.* (2020) relatam que o extrato etanólico da mistura de folhas e vagens de *Caesalpinia echinata*, Pau Brasil, apresentou atividade antioxidante dose-dependente sobre o DPPH. O extrato salino das folhas de *Caesalpinia pulcherrima*, popularmente conhecida como flamboianzinho, apresentou potencial antioxidante de 97,94% quando avaliado pelo método de DPPH e de 973,19 (mg EFeSO₄ (II)/g) quando avaliado pelo método CAT (Capacidade antioxidante total) (AGUIAR *et al.*, 2019).

O extrato salino das folhas de *Malpighia emarginata* apresentou potencial antioxidante ($20,32 \pm 0,89$) cinco vezes maior que o padrão hidroxitolueno butilado ($4,12 \pm 0,10$) quando avaliado pelo método DPPH, sendo os valores expressos em mg/mL. Dessa forma, o extrato salino foi capaz de aumentar o sequestro de radicais livres pelo método DPPH além de promover maior redução do íon férrico quando teve sua atividade antioxidante total determinada (BARROS *et al.*, 2019).

Como dito acima, a atividade antioxidante de extratos vegetais pode estar associada a diversos compostos secundários presentes nos mesmos, como

flavonoides, fenóis, taninos, ácidos fenólicos (VERRUCK *et al.*, 2018). Além destes compostos, as proteínas, que fazem parte do metabolismo primário, são também relatadas como potenciais antioxidantes devido à sua capacidade de atuar como enzimas antioxidantes, inativando as EROs (SINGH, 2011). Sendo assim, os mecanismos de ação da capacidade antioxidante de tais moléculas são bastante variados, sendo desencadeados pela: remoção dos radicais livres do meio por absorção e neutralização, varredura de EROs, sequestro dos metais catalisadores da formação de radicais livres, indução do aumento de antioxidantes endógenos ou mesmo pela interação de mais de um mecanismo (OLSZOWY *et al.*, 2019).

2.3.4 Avaliação da atividade fotoprotetora *in vitro*

O FPS (fator de proteção solar) é um sistema de classificação numérico que indica o grau de proteção oferecido pelos produtos destinados a proteção solar. Em testes *in vivo* ele é definido pela razão entre o tempo necessário para a radiação ultravioleta provocar uma dose mínima eritematosa (DME) em uma pele protegida e uma pele desprotegida de filtro solar. No entanto, os testes de fotoproteção *in vivo* necessitam de longo período de experimentação e necessidade de muitos voluntários. Sendo assim, métodos de análise *in vitro* vêm sendo desenvolvidos e aperfeiçoados para triagens iniciais de compostos candidatos a uso como fotoprotetores.

De acordo com a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 30, de 1 de junho de 2012, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), a fase de desenvolvimento de formulações de fotoprotetores pode ser realizada através de métodos *in vitro* de avaliação (BRASIL, 2012). O FPS pode ser calculado *in vitro* a partir da diluição da amostra em estudo em etanol, de acordo com o método original, com subsequente medida da absorbância em diferentes comprimentos de onda, conforme a equação a seguir (MANSUR *et al.*, 1986):

$$FPS \text{ espectrofotométrico} = FC \cdot \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \cdot I(\lambda) \cdot Abs(\lambda)$$

onde: FC = fator de correção (= 10); EE(λ) = efeito eritematogênico da radiação solar em cada comprimento de onda (λ); I(λ) = intensidade da radiação solar em cada comprimento de onda (λ); Abs(λ) = leitura da absorbância obtida da amostra em cada comprimento de onda (λ).

A utilização de produtos de origem natural como bloqueadores solares foi inicialmente descrita através da comparação entre estruturas de moléculas utilizadas em filtros solares sintéticos com moléculas presentes em plantas (PROSERPIO *et al.*, 1976). Esse estudo abriu portas para diferentes pesquisas que visam a avaliação da atividade fotoprotetora de espécies vegetais, a partir da análise de extratos e moléculas isoladas (PARRADO *et al.*, 2020).

De acordo com Parrado *et al.* (2020) o extrato aquoso de *Polypodium leucotomos*, atualmente comercializado, complementa e aprimora os sistemas antioxidantes endógenos, neutralizando ânions superóxidos, radicais hidroxila e lipoperóxidos, possuindo a capacidade de inibir a geração e liberação de EROs por raios UV prevenindo danos diretos ao DNA e acelerando a remoção de fotoprodutos induzidos. A capacidade fotoprotetora de *P. leucotomos* foi comprovada em diversos estudos *in vitro* e *in vivo* que incluem modelos animais e ensaios clínicos com seres humanos. Uma pesquisa realizada através do uso do extrato de *P. leucotomos* pelo método *in vivo* com 20 voluntários demonstrou que o extrato foi capaz de reduzir significativamente a DME além de desencadear efeitos positivos na ação antipigmentária após a exposição à radiação ultravioleta. Logo, os autores sugerem que o uso desse extrato pode ser benéfico para pessoas com dermatoses e para defesa frente a exposição solar e estresse oxidativo (SCHALKKA, 2014).

Extrato de própolis, mediante aplicação tópica, exerceu ação protetora frente a radiação UVB, semelhante à exercida pelo filtro de oxibenzona. Os autores reportam que a administração oral do extrato apresentou ação quimioprotetora e antiinflamatória semelhante ao tratamento oral com *P. leucotomos* (controle positivo), no entanto não foi observado aumento na proteção frente a queimaduras solares nos animais tratados oralmente (BATISTA *et al.*, 2018).

Orlanda e Vale (2015) avaliaram *in vitro* o extrato etanólico de *Euphorbia tirucalli*, que apresentou FPS entre 6,05 a 19,82. De acordo com os autores, a presença de flavonoides, taninos e alcaloides no extrato favoreceu positivamente a absorção da radiação UVB. Extratos do caule de cajueiro, *Anacardium occidentale*, apresentaram atividade antioxidante e fotoprotetora *in vitro* demonstrando FPS máximo de 6,37 (NASCIMENTO *et al.*, 2017).

Yamaguchi e colaboradores (2016) ao avaliarem a atividade fotoprotetora *in vitro* de extrato etanólico de 16 tipos de espécies vegetais amazônicas relataram que os extratos das cascas de *Caryocar villosum*, *Garcinia madruno* e o extrato das

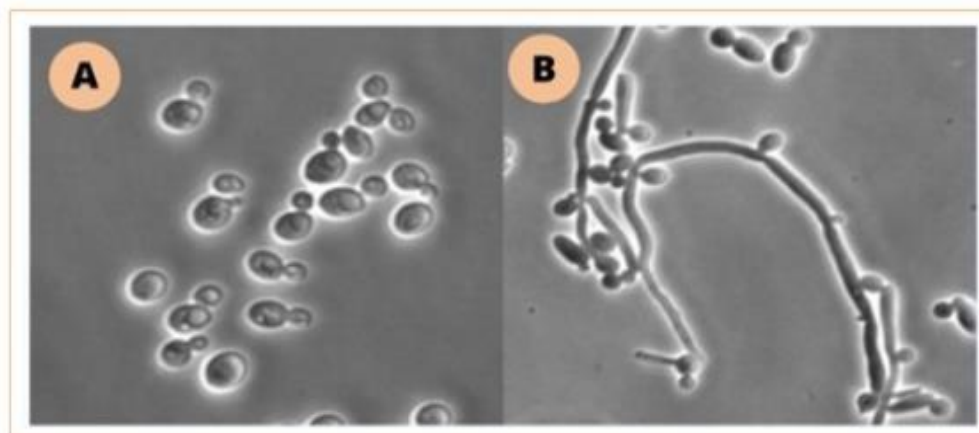
sementes de *Euterpe precatori* apresentaram o melhor desempenho fotoprotetor, com FPS acima de 6. Em avaliações *in vitro* da atividade fotoprotetora do extrato hidroetanólico do bagaço de uva (*Vitis labrusca* L.), Dengo *et al.* (2017) relataram um FPS máximo de 43,8 para essa formulação.

A atividade fotoprotetora dos extratos vegetais está relacionada à presença de compostos aromáticos com pares de elétrons livres, facilitando a capacidade de absorção de raios UV por essas formulações (LIMA *et al.*, 2020). Sendo assim, metabólitos secundários com núcleos aromáticos que atuam como cromóforos, como compostos fenólicos, ácidos fenólicos e flavonoides, taninos e alcaloides (POLONINI *et al.*, 2014) são capazes de desempenhar essa função. Além disso, devido à relação intrínseca entre processos oxidativos e o fenômeno da fotoexposição, uma vez que os raios UV em excesso podem reagir com as células da pele desencadeando a produção de EROs, estudos sugerem o sinergismo entre a ingestão de antioxidantes orais e o uso de fotoprotetores tópicos no controle dos danos causados por processos oxidativos (GONTIJO *et al.*, 2020).

2.4. *Candida*

O gênero *Candida* pertence ao Filo Ascomycota, Ordem Saccharomycetales e Família Saccharomycetaceae, possuindo espécies responsáveis por causar infecções no homem através de micoses superficiais e invasivas (SANCHES, 2018). Esse gênero é composto por fungos leveduriformes e dimórficos, podendo produzir hifas e pseudo-hifas de acordo com o ambiente nutricional que estão inseridos (Figura 10) (FIGUEIRA *et al.*, 2016). Espécies de *Candida* são cosmopolitas e fazem parte da microbiota normal dos animais, colonizando mucosas do trato gastrointestinal, boca, vagina e pele (FIGUEIRA *et al.*, 2016; DA PAZ, 2018). Algumas espécies de *Candida* se destacam por sua importância médica, devido às altas taxas de infecções correlatadas, são elas: *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *Candida glabrata*, *C. krusei*, *Candida guilliermondii* e *Candida lusitanae* (BRANDÃO, 2017).

Figura 10 - Dimorfismo de fungos da espécie *Candida albicans*, apresentando morfologia leveduriforme (a) e filamentosa (b).



Fonte: Emazer, 2016

A incidência de infecções por *Candida* spp. varia de 2 a 6,7 por 1.000 admissões hospitalares no mundo, sendo 5 a 10 vezes maiores em unidades de tratamento intensivo (UTIs) que nas enfermarias em geral (DELALOYE *et al.*, 2015). Ainda, os quadros de infecções se agravam nos últimos anos diante do aumento de cepas resistentes a antimicrobianos, resistência essa que pode ser induzida através da pressão seletiva exercida pelas drogas destinadas com maior frequência aos tratamentos antimicrobianos, além do uso indiscriminado de fármacos (ESTRELA, 2018).

O tratamento convencional de patogenias causadas por *Candida* spp. pode ser realizado através do uso de antimicrobianos da classe dos imidazóis e polienos, como cetoconazol (HAEGLER *et al.*, 2017) e anfotericina B (KIM *et al.*, 2018) respectivamente. Observa-se que o número de antifúngicos disponíveis no mercado vêm aumentando, no entanto, ainda se encontram em desvantagem quando comparados a quantidade de antibióticos. Tal cenário representa um grande desafio para a clínica e pesquisadores, que por sua vez buscam novas fontes bioativas com potencial antimicrobiano para suprir essa lacuna (MENOZZI *et al.*, 2017) a exemplo dos extratos vegetais enriquecidos com moléculas bioativas. Os extratos glicolíticos das raízes de *Pfaffia paniculata*, das folhas de *Hamamelis virginiana*, cascas da árvore de *Stryphnodendron barbatiman* e caules e folhas de *Gymnema sylvestre*, tiveram seu potencial antibiofilme avaliados frente a cepas de *C. albicans* (ATCC 18804). Todos

os extratos testados apresentaram ação antimicrobiana sobre os biofilmes, e de acordo com os autores podem ser utilizados com finalidades de tratamentos odontológicos (DOMINGUES *et al.*, 2023).

Geraldi *et al* (2022) reporta a atividade antimicrobiana de extratos vegetais de *Cymbopogon citratus*, *Curcuma xanthorrhiza*, *Curcuma aeruginosa* e *Zingiber officinale* var. *rubrum* frente a *Candida albicans* ATCC 10231 através do método de difusão de disco determinando MIC e CMF de 3,8 mg/mL para as preparações testadas.

Ainda, a literatura descreve a atividade anti-candida de extratos metanólicos de folhas de *Brucea antidysenterica*, *Aloe vera*, e *Justicia schimperiana*. O extrato de folhas de *B. antidysenterica* e *J. schimperiana* formaram uma zona média de inibição de $15,5 \pm 0,5$ mm e $15,3 \pm 0,58$ mm, respectivamente, contra *Candida albicans* na concentração de 200 mg/mL pelo método de difusão de disco. De acordo com os autores, a atividade antimicrobiana dos extratos estava atrelada à presença de metabólitos secundários nas mesmas (GIZAW *et al.*, 2022).

Ensaio da avaliação da capacidade de adesão de cepas de *C. glabrata* ZIM 2369 após tratamento com extratos vegetais de *Leontopodium nivale*, *Peucedanum ostruthium* e *Sedum roseum* demonstraram uma diminuição da capacidade adesiva de 10% para 24% após exposição aos extratos. Tal resultado foi explicado pelos autores devido à presença de monoterepenos contidos em extratos vegetais que possuem capacidade de inibir a formação de biofilme de *Candida*, mediante a interação com componentes lipídicos na estrutura celular, aumentando assim a permeabilidade da membrana e causando desequilíbrio eletrolítico (TOMIČIĆ *et al.*, 2022).

2.5. *Pectobacterium*

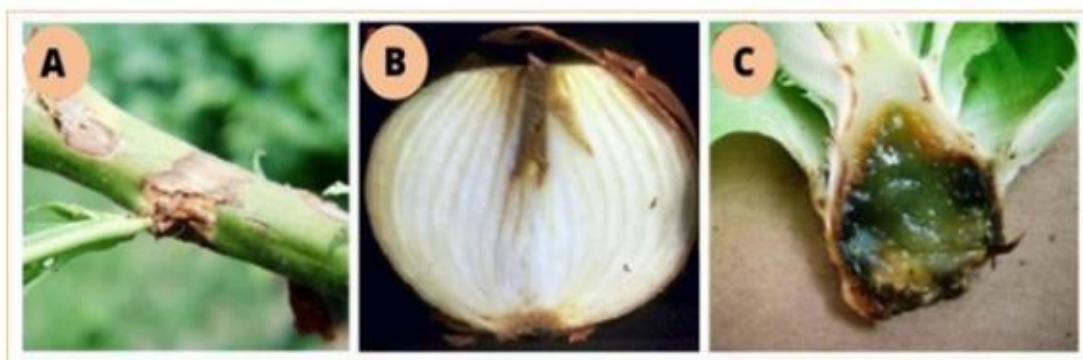
Os fitopatógenos são microrganismos que acometem organismos vegetais através da indução de distúrbios metabólicos celulares, secreção de toxinas, enzimas e fitorreguladores, utilizando esses mecanismos para absorverem nutrientes das plantas para seu próprio desenvolvimento (REGINA e BORBA, 2018).

As bactérias fitopatogênicas são de grande importância agrícola devido a sua facilidade de disseminação e dificuldade do seu controle. Em ambientes favoráveis, a

ocorrência de bacterioses de plantas pode condicionar ou inviabilizar a exploração econômica de diversas culturas agrícolas (TEBALDI & VIOLATTI, 2016). Isolados da espécie *Pectobacterium carotovorum*, pertencente à família Enterobacteriaceae, se diferenciam quanto às suas características fenotípicas, bioquímicas e hospedeiros que possuem a capacidade de colonizar. *P. carotovorum* e suas subespécies podem se associar especificamente a alguns hospedeiros, mostrando uma maior adaptação aos mesmos (TOTH, *et al.*, 2003; FILHO & MELO, 2008; WALERON, 2018).

Essas bactérias são responsáveis por causar a podridão mole em diversas hortaliças, como: couve-flor, rúcula, tomate, alface e cebola, dentre outros. O ciclo da podridão mole é iniciado a partir da penetração da bactéria em seu hospedeiro por meio de ferimentos mecânicos ou naturais. Durante a penetração, bactérias liberam enzimas pectolíticas que agem quebrando a pectina (polissacarídeo ramificado contido na parede celular das plantas), auxiliando sua disseminação no organismo do hospedeiro. O órgão afetado apodrece rapidamente (Figura 11) pela ação das enzimas e/ou toxinas liberadas; ainda, essas bactérias possuem a habilidade de retirar seus nutrientes de tecidos mortos, característica marcante de patógenos necrotróficos (MELO, *et al.*, 2018).

Figura 11 - *Pectobacterium* spp. causando a podridão radicular em diferentes tecidos. (A) Estágio intermediário da doença. (B, C) Estágio avançado da doença com maiores sintomas de necrose.



Fonte: Agrolink, 2016

Duas possíveis soluções para o controle de fitopatógenos seriam o uso de sementes resistentes e a rotação de culturas. No entanto, não há cultivares resistentes comerciais a alguns dos principais fitopatógenos, embora genótipos moderadamente resistentes já tenham sido identificados. (MENGISTU *et al.*, 2007, 2011, 2013). A

rotação de cultura, por sua vez, apresenta uma problemática pois várias espécies de fitopatógenos conseguem sobreviver e se disseminar em restos de cultura (SILVA, 2018b). Uma outra problemática que favorece a incidência de enfermidades atribuídas a fitopatógenos no Brasil é a aplicação da semeadura direta, sistema mais utilizado para preparação do solo em áreas de produção de grãos (FEBRAPDP, 2013). A contínua produção de monoculturas em campos de semeadura direta pode causar o acúmulo de palha, facilitando a disseminação de fitopatógenos (REIS *et al.*, 2011; POMPEU *et al.*, 2021).

Diante da falta de opções no controle de pragas agrícolas, os agrotóxicos são amplamente utilizados, porém essas práticas estão associadas à contaminação dos recursos hídricos (LOPES *et al.*, 2018), intoxicação alimentar (MEDEIROS *et al.*, 2014) e desencadeamento de transtornos mentais e genotoxicidade em indivíduos contaminados (CARGNIN *et al.*, 2017). Assim, moléculas naturais com potencial biotecnológico, como as lectinas, são alternativas para o desenvolvimento de novas formas de controle para fitopatógenos. É importante ressaltar que proteínas podem ser produzidas em larga escala por meio, por exemplo, de recombinação gênica (RIBEIRO *et al.*, 2015). Além disso, podem ser utilizadas no desenvolvimento de cultivares resistentes, conforme demonstrado por culturas geneticamente modificadas que apresentam resistência a insetos por expressarem a proteína CRY derivada de *Bacillus thuringiensis* (HENDRIKSMA *et al.*, 2012; BROOKES *et al.*, 2019).

2.6. Métodos avaliativos da toxicidade de compostos naturais

Conforme exposto, as plantas são dotadas de diversas propriedades fitoterápicas. O hábito de utilização das mesmas sob diversas formas, como chás, pomadas e extratos, no tratamento de patologias distintas, geralmente baseia-se no pressuposto de que além de possuírem atividades biológicas, as plantas são desprovidas de toxicidade (CARLINI *et al.* 1988; BHUYAN *et al.*, 2017). No entanto, ressalta-se que nem sempre o grau de toxicidade de preparações a base de plantas é diferente daquele desencadeado por medicamentos sintéticos e convencionais. Ainda, por muitas vezes preparos vegetais possuem moléculas tóxicas que, ao depender das concentrações, podem acarretar diferentes reações adversas, como

citotoxicidade, lesões hepáticas e lesões renais, por exemplo (ROBERTS e WINK, 1998; ZHOU *et al.*, 2021).

Nesse sentido, faz-se necessária a avaliação da toxicidade de compostos de origem natural visando assegurar seu uso e executar correções quanto às dosagens indicadas para cada finalidade, uma vez que o uso indiscriminado e irresponsável de preparações vegetais é um grande problema de saúde pública (VILAS-BOAS *et al.*, 2021). São diversas as maneiras de avaliar toxicidade de compostos isolados ou preparados a base de plantas, *in vitro* e *in vivo* (MUNDAY *et al.*, 2014). De forma geral os estudos toxicológicos *in vivo* podem incluir a avaliação de toxicidade aguda, toxicidade sub-crônica e toxicidade crônica. Observa-se ainda que os parâmetros toxicológicos podem ser afetados por idade do animal, peso, temperatura, condições patológicas e nutricionais (CUNHA *et al.*, 2013).

A avaliação da toxicidade aguda por via oral caracteriza-se por ser um ensaio de toxicidade de curto prazo fundamentado na administração de doses que podem variar até 2000 mg/kg. Geralmente utilizam-se grupos contendo 3 animais cada. Após a gavagem, os animais são observados individualmente durante os primeiros 30 minutos, nas primeiras 24 horas e diariamente durante 14 dias. Dentro desse período observam-se parâmetros nutricionais que incluem a ingestão de água e alimento, bem como o ganho e perda de peso. Além disso são avaliadas possíveis mudanças na pele, nos pelos e nos olhos, ocorrência de tremores, letargia, convulsões, diarreias e letalidade. Esse teste permite avaliar a toxicidade de compostos em concentrações elevadas correlacionado com a presença de quadros de toxicidade desencadeada (OECD, 2001).

O teste de toxicidade dérmica aguda permite avaliar a capacidade de compostos, em pequenos intervalos de tempos, induzirem sinais de toxicidade tópica, o que inclui a presença de edemas, eritemas, exsudatos e retardamento do crescimento de pelos após aplicação do composto. Além disso, avalia-se a capacidade do composto em desencadear alterações nos olhos, convulsões bem como alterações histológicas de órgãos internos, uma vez que a molécula em estudo pode ultrapassar as camadas da derme e epiderme, alcançando outros sistemas (OECD 402, 2001).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados desta tese estão apresentados na forma de artigos. O primeiro artigo descreve a avaliação de extratos salinos de folha e caule de *P. elatior* quanto à sua composição fitoquímica e efeitos fotoprotetores e antioxidantes, bem como a investigação da toxicidade aguda por vial e toxicidade dérmica do extrato das folhas em camundongos. O artigo foi publicado no periódico “Toxicological Research”, volume 39, p. 179-190, 2023 (<https://doi.org/10.1007/s43188-022-00160-2>).

O segundo artigo apresenta os resultados da purificação da lectina de folhas de *P. elatior* (PeLL), bem como a avaliação de sua atividade antimicrobiana *in vitro* e toxicidade aguda oral em camundongos. O artigo foi publicado no periódico “Probiotics and Antimicrobial Proteins”, volume 15, p. 287-299, 2023 (<https://doi.org/10.1007/s12602-021-09837-w>).

3.1 Artigo 1

Toxicological Research (2023) 39:179–190
<https://doi.org/10.1007/s43188-022-00160-2>

Online ISSN 2234-2753
 Print ISSN 1976-8257



ORIGINAL ARTICLE



Saline extract of *Portulaca elatior* leaves with photoprotective and antioxidant activities does not show acute oral and dermal toxicity in mice

Suéllen Pedrosa da Silva¹ · Clarice Barbosa Lucena da Costa¹ · Anderson Felipe Soares de Freitas¹ · José Dayvid Ferreira da Silva¹ · Wêndeo Kennedy Costa¹ · Wênio Sandoval Filho Lima da Silva¹ · Janaina Carla Barbosa Machado² · Sandra Maria Souza da Silva³ · Magda Rhayanny Assunção Ferreira² · Luiz Alberto Lira Soares² · Jacinto da Costa Silva Neto¹ · Márcia Vanusa da Silva¹ · Alisson Macário de Oliveira¹ · Patrícia Maria Guedes Paiva¹ · Thiago Henrique Napoleão¹

Received: 28 July 2022 / Revised: 20 October 2022 / Accepted: 28 November 2022 / Published online: 7 December 2022
 © The Author(s) under exclusive licence to Korean Society of Toxicology 2022

Abstract

The present study aimed to evaluate saline extracts from the leaves (LE) and stem (SE) of *Portulaca elatior* in relation to their phytochemical composition and photoprotective and antioxidant effects, as well as to evaluate the toxicity of the leaf extract. The extracts were characterized for protein concentration and phenol and flavonoid contents, as well as for thin layer chromatography (TLC) and high-performance liquid chromatography (HPLC) profiles. Total antioxidant capacity and DPPH and ABTS⁺ scavenging activities were determined. In the photoprotective activity assay, the sun protection factor (SPF) was calculated. The toxicity evaluation of LE included in vitro hemolytic assay and in vivo oral and dermal acute toxicity assays in Swiss mice. LE showed the highest protein, phenol, and flavonoid (8.79 mg/mL, 323.46 mg GAE/g, and 101.96 QE/g, respectively). TLC revealed the presence of flavonoids, reducing sugars, terpenes, and steroids in both extracts. In HPLC profiles, LE contained flavonoids, while SE contained flavonoids and ellagic tannins. The antioxidant activity assays showed the lowest IC₅₀ values (34.15–413.3 µg/mL) for LE, which presented relevant SPF (> 6) at 50 and 100 µg/mL. LE demonstrated low hemolytic capacity, and no signs of intoxication were observed in mice treated orally or topically at 1000 mg/kg. However, at 2000 mg/kg, an increase in the mean corpuscular volume of erythrocytes and a reduction in lymphocytes were observed; animals treated topically with 2000 mg/kg displayed scratching behavior during the first hour of observation and showed edema and erythema that regressed after six days. In conclusion, LE did not present acute oral or dermal toxicity in Swiss mice at a dose of 1000 mg/kg and showed slight toxicity in animals treated with 2000 mg/kg.

Keywords Safety assessment · Dermal irritation · Caatinga · Portulacaceae

Introduction

The skin is the organ most affected by ultraviolet (UV) radiation, and excessive sun exposure is associated with aging and the development of acne, melasma, and skin cancers. The carcinogenic capacity of UV radiation is related to the activation of photosensitizing agents and the consequent formation of reactive oxygen species (ROS) that can trigger damage to DNA molecules and alter nucleotide sequences [1]. Endogenous antioxidant substances prevent and/or reduce oxidative damage caused by ROS. However, the antioxidant mechanisms performed by the body are often

✉ Thiago Henrique Napoleão
thiago.napoleao@ufpe.br

¹ Departamento de Bioquímica, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil

² Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Desenvolvimento Analítico e Tecnológico de Fitoterápicos, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil

³ Departamento de Histologia e Embriologia, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil

insufficient to prevent the consequences associated with the exacerbated presence of free radicals. Oxidative stress can trigger several pathological processes [2].

Therefore, it is important to find new molecules with antioxidant and photoprotective properties for use in cosmetics, foods, and medicines [3]. In addition, the preference for natural products free of parabens, for example, has increased, as they may be associated with fewer allergic reactions, also offering reduced environmental risks, such as when dispersed in water resources [4].

Caatinga plants have been studied because of their high biotechnological potential for various purposes owing to their antimicrobial, antioxidant, photoprotective, and anti-inflammatory activities [5]. The abundant vegetation of the Caatinga includes *Portulaca elatior*, a species of herb that reaches approximately 10 cm and has recently been reported as a source of important molecules with biomedical appeal. Silva et al. [6] reported that the small roots of *P. elatior* are rich in a lectin (carbohydrate-binding protein) called PeRoL, which has antimicrobial activity against a range of pathogens such as *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, and *Candida* spp. Silva et al. [7] described a mannose/galactose-binding and thermostable lectin (PeLL) from the leaves of *P. elatior* that showed antimicrobial activity against phytopathogenic bacteria of the *Pectobacterium* genus and human pathogenic fungi of the *Candida* genus. These studies encourage further evaluation of the biotechnological and biomedical potential of distinct types of bioactive molecules from *P. elatior*.

Our work aimed to evaluate saline extracts from the leaves and stem of *P. elatior* in relation to their phytochemical composition and photoprotective and antioxidant effects, as well as to evaluate the in vitro hemolytic activity as well as in vivo acute oral toxicity and dermal toxicity of leaf extract in Swiss mice.

Materials and methods

Preparation of saline extracts from *P. elatior*

P. elatior was collected in Aroeiras, Paraíba, Brazil, with authorization (no. 36,301) from the *Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade* (ICMBio) and registered (registration no. AD457F9) in the *Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado* (SisGen). Taxonomic identification was performed by Dr. Rita de Cássia Pereira, and a voucher specimen (no. 90,976) was deposited in the herbarium of the *Instituto Agronômico de Pernambuco* (Recife, Brazil). The material (leaves or stem) was kiln-dried (56 °C) for 5 days and then homogenized for 6 h at 4 °C with 0.15 M NaCl at a

Table 1 Thin layer chromatography conditions employed to verify the presence of secondary metabolites in saline extracts from *Portulaca elatior*

Class	System	Standard	Revealer
Alkaloids	70:20:10	Piperin	Dragendorff
Anthracenic derivatives	20:30:15:0.5	Senoside B	HNO ₃ + Δ + KOH
Cinnamic acid derivatives	90:5:5	Caffeic acid	AlCl ₃
Condensed tannins	90:5:5	Catechin	Chloridric vanillin + Δ
Coumarins	50:50:50	Coumarin	KOH
Flavonoids	90:5:5	Quercetin	AlCl ₃
Hydrolysable tannins	90:5:5	Gallic acid	FeCl ₃
Reducing sugars	100:11:11:26	Glucose	Thymol + H ₂ SO ₄ + Δ
Saponins	16:10:2.5	Escin	Liebermann-Burchard + Δ
Terpenes/Steroids	90:10	β-sitosterol	Liebermann-Burchard + Δ

ratio of 1:5 (w/v) in a magnetic stirrer. The mixture was filtered through filter paper and centrifuged (9,000 g; 15 min, 4 °C). The supernatants corresponded to the leaf (LE) or stem (SE) extracts, which were stored at 4 °C until use in the assays.

Characterization of the extracts

Protein concentration

Protein concentration (mg/mL) of the saline extracts of *P. elatior* was determined by the method of Lowry et al. [8] using a bovine serum albumin standard curve (31.25–500 µg/mL).

Thin layer chromatography (TLC)

TLC was used to identify the classes of secondary metabolites present in the saline extracts of *P. elatior*. Silica gel plates (60-F254) were placed in a vertical glass chamber (10×10 cm). The saturation time of the mobile phase was 30 min at 25 ± 2 °C. The plates were sprayed with specific reagents for each class of compound investigated (Table 1) and visualized under ultraviolet light at 254 or 365 nm. Images were acquired using the UVP MultiDoc-It model 125 imaging system (Analytik Jena) and a Canon Rebel T3 EOS 1100 D camera. The retention factor (R_f) was calculated as the ratio of the distance traveled by the compound to the distance traveled by the solvent front.

Estimation of the content of total phenols and flavonoids

The total phenol content was estimated using an adaptation of the method described by Singleton and Rossi [9]. An aliquot (20 μ L) of the sample was mixed with 100 μ L of Folin-Ciocalteu reagent for 3 min. Then, 80 μ L of sodium bicarbonate solution (0.7 M) was added. The reaction was allowed to proceed for 2 h in the dark. Subsequently, the absorbance was measured at 735 nm using a microplate reader (μ Quant MQX200; BioTek). The results were calculated based on a standard curve of gallic acid (10–100 μ g/mL).

Flavonoid content was determined using the aluminum chloride colorimetric method [10]. Samples (100 μ L; 1 mg/mL) were mixed with 100 μ L of the reagent [2% aluminum chloride (AlCl_3) in methanol] for 1 h in a dark room at 28 °C. Subsequently, the absorbance was read at 420 nm using a microplate reader. Quercetin was used to obtain a calibration curve (10–100 μ g/mL).

High-performance liquid chromatography (HPLC)

The sample (2.5 mg) was diluted in 2 mL methanol and ultrasonicated for 10 min to achieve complete solubilization. An aliquot (0.25 mL) was removed from the stock solution and put into a 5 mL volumetric flask, and the volume was filled up to the mark with ultrapure water. After filtration, HPLC analyses were performed on an Ultimate 3000 HPLC system (Thermo Fisher Scientific, USA) coupled to a photodiode array detector (PAD) equipped with a binary pump (HPG-3 $\times$ 00RS), degasser, and autosampler with a 20 μ L loop (ACC-3000). The wavelength was set at 270 and 350 nm for detecting hydrolyzable tannins and flavonoids, respectively. Chromatographic separations were obtained with a Dionex C 18 (USA) (250 mm $\times$ 4.6 mm i.d., 5 μ m) column equipped with a pre-column (4 mm $\times$ 3.9 mm C 18; Phenomenex). The separations were conducted at a temperature of 26 °C. The mobile phase, consisting of ultrapure water (A) and methanol (B), was acidified with 0.05% trifluoroacetic acid, and the flow was adjusted to 0.6 mL/min. A gradient program was applied as follows: 0–10 min, 30–45% B; 10–15 min, 45–60% B; 15–25 min, 60–90% B; 25–30 min, 90–30% B. For data analysis and processing, Chromeleon 6.8 software (Dionex/Thermo Fisher Scientific, USA) was used.

Antioxidant activity assays

Total antioxidant capacity (TAC)

TAC was determined according to the method described by Young et al. [11]. Initially, 100 μ L of the extract (31.25–1000 μ g/mL) or ascorbic acid (31.25–1000 μ g/mL) were mixed with 1 mL of the reagent solution (0.6 M, 28 mM sodium phosphate, and 4 mM ammonium molybdate). After 90 min of incubation at 95 °C, the absorbance at 695 nm was measured using a DR-200Bc microplate reader (Diatek, Wuxi, China). The IC_{50} (the concentration responsible for a 50% reduction in absorbance) of the samples was calculated using linear regression.

DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl) scavenging activity

The assay was performed according to the method described by Mishra et al. [12]. To evaluate the ability of *P. elatior* extracts to scavenge DPPH free radicals, an aliquot of 40 μ L of the extract at different concentrations (31.25–1000 μ g/mL) was mixed with 250 μ L of 1 mM DPPH solution and incubated for 25 min at 28 °C, protected from light. The reduction in the concentration of DPPH radicals was monitored by measuring the decrease in absorbance at 517 nm using a DR-200Bc microplate reader. Ascorbic acid was used as the positive control. IC_{50} values were calculated using linear regression.

ABTS⁺ (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) scavenging activity

The experiments were performed according to the method described by Nenadis et al. [13]. ABTS⁺ radical was obtained by mixing 5 mL of ABTS solution (7 mM) with 88 μ L of 140 mM potassium persulfate solution. This mixture remained in the dark at 28 °C for 16 h. The ABTS⁺ radical solution was diluted with ethanol to an absorbance of 0.700 ± 0.020 at 734 nm. Samples (10 μ L) of the extract (31.25–1000 μ g/mL) were mixed with 1 mL of the ABTS⁺ radical, incubated for 6 min, and then the absorbance at 734 nm was measured on a DR-200Bc microplate reader. Ascorbic acid was used as the standard. The IC_{50} values were determined by linear regression.

Photoprotective activity

The in vitro photoprotective activity of *P. elatior* extracts was evaluated by determining the maximum wavelength (λ_{max}) of absorption and maximum absorbance (A_{max}). The extracts were dried and diluted in ethanol at a concentration

of 0.2 µg/mL, and the absorbance of the solution was determined at wavelengths from 290 to 320 nm in a 1.0 cm quartz cuvette, and the absorption in the UVB regions was checked using a Gene Quant 1300 spectrophotometer (GE Healthcare Life Sciences, Sweden). The sun protection factor (SPF) was calculated as described by Mansur et al. [14] according to the following equation:

$$SPF = CF \sum_{290}^{320} EE(\lambda) I(\lambda) |(\lambda)|$$

where CF is the correction factor (= 10), $EE(\lambda)$ is the erythemal effect of solar radiation at each wavelength (λ), $I(\lambda)$ is the intensity of solar radiation at each wavelength (λ), and $Abs(\lambda)$ is the absorbance obtained from the sample at each wavelength (λ).

Toxicity evaluation

Owing to its high antioxidant and photoprotective activities, the leaf extract was selected for toxicity evaluation tests. The in vivo experiments were performed with the approval of the Ethics Committee on Animal Use of the *Universidade Federal de Pernambuco* (process no. 0081/2020).

In vitro hemolytic assay.

This assay was performed according to the method described by Malagoli et al. [15]. Blood samples (5–10 mL) were obtained from healthy volunteers who signed a consent form. Then, the red blood cells were isolated from whole blood using Ficoll-Hypaque (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) and centrifuged (1500 rpm for 10 min at 4 °C). Next, the erythrocytes were washed three times with phosphate-buffered saline (pH 7.4). In test tubes, 1.1 mL of erythrocyte suspension (1%, v/v) and 0.4 mL of LE at different concentrations (7.81–1000 µg/mL) were added. Saline solution was used as a negative control, and Quillaja saponin (0.0025% w/v) as a positive control. After 60 min of incubation, the cells were centrifuged, and the absorbance of the supernatant at 540 nm was recorded using a Gene Quant 1300 spectrophotometer. The following formula was used to analyze the results:

$$\text{Hemolysis (\%)} = (A_t - A_{nc}) \times 100 / (A_{pc} - A_{nc})$$

where A_{nc} is the negative control absorbance, A_t is the test absorbance, and A_{pc} is the positive control absorbance. The EC_{50} (concentration of the extract causing hemolysis equivalent to 50% of that observed in the positive control) was calculated by linear regression in GraphPad Prism 8 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA).

In vivo oral acute toxicity assay.

The test followed the OECD protocol no. 423 [16], and the following parameters were evaluated: weight, water, and food consumption, and the presence of behavioral and

physical changes were checked daily. Blood biochemical and hematological analyses, as well as histopathological analysis, were performed at the end of the assay. The animals (Swiss mice) were divided into three groups, each consisting of three animals. The two groups were treated separately with LE at a single dose of 1000 or 2000 mg/kg per os (gavage). In the third group, corresponding to the control group, NaCl 0.9% (w/v) was administered in a single dose. The assay lasted for 14 days.

Acute dermal toxicity in vivo.

The assay followed OECD protocol no. 402 [17]. Female Swiss mice were randomly divided into three groups ($n=5$ per group). Each animal was kept separately in cages, and part of the dorsal region was shaved (2 cm × 2 cm) 48 h before the experimental procedure. After this period, 1000 or 2000 mg/kg LE was applied topically to the shaved area. The negative control was topically administered with 0.9% NaCl. After application, the animals were observed for 30, 60, and 120 min and for fourteen consecutive days regarding the assessment of skin, eyes, salivation, tremors, convulsions, motor activity, response to sensory stimuli, and other clinical signs of toxicity [18]. Edema and erythema were also observed. Hair growth was evaluated and classified as: P1 - no apparent hair growth; P2 - initial stage of hair growth; P3 - localized hair growth, with the appearance of imperfections; P4 - advanced hair growth with few visible flaws.

Biochemical and hematological analyzes

Blood samples were collected from mice of the acute and dermal toxicity assays at the end of the experiments in tubes containing ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) for hematological analysis. The following parameters were evaluated: red blood cells (RBC), hematocrit (HTC), hemoglobin (Hb), mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin (MCH), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC), platelets (PLT), total leukocytes (LEU), segmented leukocytes (SEG), lymphocytes (LYM), monocytes (MON), basophils (BAS), and eosinophils (EOS). Biochemical analyses were performed with the serum obtained after centrifugation (3000 rpm for 15 min). Albumin (ALB), alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP), bilirubin (BIL), gamma glutamyl transferase (GGT), total protein (PT), urea (UR), creatinine (CRE), total cholesterol (TC), and triglycerides (TG) levels were evaluated using commercial diagnostic kits (Labtest Diagnósticos, Lagoa Santa, Brazil) and a COBAS Mira Plus analyzer (Roche Diagnostics Systems, Basel, Switzerland).

Histological analysis

The organs (liver, kidneys, heart, lung, stomach, and spleen) of the animals from the acute oral toxicity assay were collected and placed in 10% buffered formaldehyde solution for histopathological analysis, followed by dehydration in alcohol (70–100%), diaphanization in xylene, and embedding in paraffin. Finally, 5 mm sections of the samples were fixed on glass slides and stained with hematoxylin-eosin for analysis using an optical microscope.

Statistical analysis

Results are expressed as the mean of repetitions $\pm$ standard deviation (SD). Analysis of variance (ANOVA) was performed, followed by Tukey's test for multiple comparisons. The statistical significance level was set at a p -value < 0.05 .

Results

The stem extract (SE) and the leaf extract (LE) of *P. elatior* showed protein concentrations of 5.46 and 8.79 mg/mL, respectively. Phytochemical screening by TLC revealed the presence of flavonoids, reducing sugars, terpenes, and steroids in the SE and LE. Tannins, anthracene derivatives, coumarins, alkaloids, and saponins were not detected. The extracts of *P. elatior* showed elevated levels of phenols (SE: 24.63 mg GAE/g; LE: 323.46 mg GAE/g) and flavonoids (SE: 3.36 mg QE/g; LE: 101.93 mg QE/g), corroborating the results obtained by TLC. However, it was observed that the concentration of both classes of secondary metabolites was approximately 13 (phenols) and 30 (flavonoids) times higher for LE when compared to SE, with LE also showing a higher protein concentration, as already mentioned. In the HPLC profiles, LE (Fig. 1 A) and SE (Fig. 1B) exhibited four and three peaks, respectively. Peaks 1–3 in both samples had typical UV spectra compatible with flavonoids, with absorption maxima between 257 and 353 nm; peak 4, which is only present in SE, showed a scanning spectrum corresponding to ellagic tannin (Figure S1).

The results of the antioxidant activity assays (Table 2) for LE showed lower IC_{50} values than those for SE. Furthermore, the IC_{50} values determined for LE in the ABTS⁺ and DPPH assays were close to those estimated for ascorbic acid. Regarding the photoprotection assay, LE presented a relevant SPF (> 6.0) at concentrations of 50 and 100 μ g/mL (Table 3). On the other hand, SE did not show relevant photoprotective activity at any tested concentration.

In the hemolytic activity assay, LE showed an EC_{50} of 2292 μ g/mL. Regarding the assessment of *in vivo* toxicity, the animals did not show significant changes ($p > 0.05$)

in weight gain, water, and food consumption when treated orally or topically with LE (1000 or 2000 mg/kg) compared to the negative control. According to the histological analysis performed on the organs of the animals treated orally with LE, no significant changes were observed in the lungs, liver, heart, stomach, and kidneys compared with the control (Fig. 2). About the evaluation of hematological parameters, animals treated orally with 1000 mg/kg LE did not show significant changes, but animals treated with 2000 mg/kg LE showed an increase in MCV and a reduction in the number of lymphocytes (Table 4). No changes were observed in the biochemical blood parameters in animals treated orally with both doses of LE (Table 5).

Histological analysis (Fig. 2) showed that control and LE-treated animals presented liver with preserved homogeneous parenchyma and capsule; stomach with mucosa, submucosa, muscle fibers, and serosa without alterations, absence of infiltrates and degenerative and necrotic alterations; heart with preserved parenchyma and muscle fibers; and lungs with preserved capsule, absence of infiltrates, degenerative and necrotic changes. In relation to the kidneys, mice treated with the extract at both doses showed nephrons and tubules without structural and cellular alterations but with slight variation in Bowman's space.

In the evaluation of LE dermal toxicity, no hematological (Table 4) or serum biochemical changes (Table 5) were detected. Changes in urinary frequency, drowsiness, alteration in eye color, diarrhea, and death were also not observed in the treated animals. In contrast, the animals tried to scratch themselves repeatedly during the first hour of observation, a behavior combined with frequent paw licking as a form of self-cleaning. After the first hour of topical LE application, this behavior stopped. Two animals in the 2000-mg/kg group had S2-score edema (Table 6) with regression to S0 on the sixth day of analysis, and one animal had E1-score erythema with regression to E0 on the sixth day. According to the hair growth analysis, a growth stimulus was observed in the group of animals treated with 2000 mg/kg LE: 60% of the animals in this group reached the maximum stage of hair growth (P4) on the last day of analysis, while only 20% of the animals in the control and 1000-mg/kg treatment groups achieved the same result (Table 6).

Discussion

SE and LE contained proteins, and according to Silva et al. [6], a saline extract from the roots of *P. elatior* has a protein concentration of 5.13 mg/mL. Proteins constitute a diverse and heterogeneous group of macromolecules and therefore have various biological activities, such as antimicrobial [19], antitumor [20], insecticidal [21], and antioxidant [22]

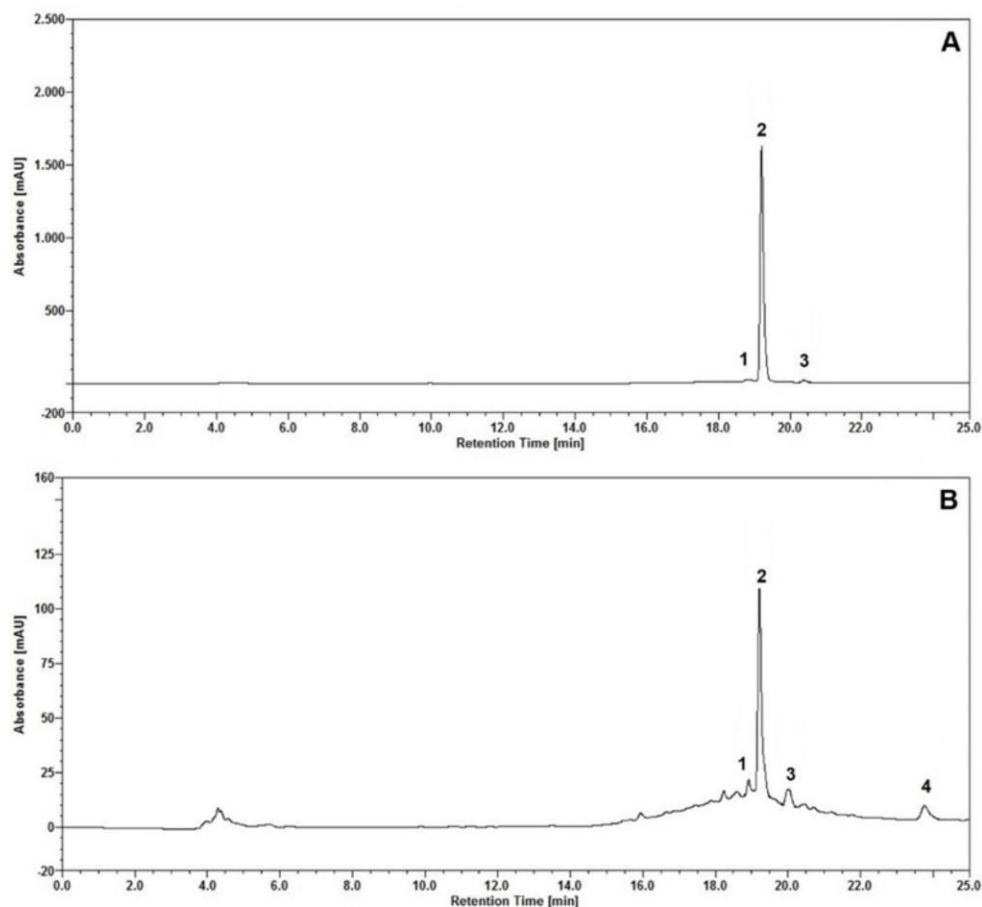


Fig. 1 High performance liquid chromatography profiles of saline extracts from leaves (A) and stem (B) of *P. elatior*

Table 2 Antioxidant activity of saline extracts from stem (SE) and leaves (LE) of *P. elatior* determined through the total antioxidant capacity (TAC) test and DPPH and ABTS⁺ scavenging assays

Sample	IC ₅₀ (μg/mL)		
	TAC	ABTS ⁺	DPPH
SE	9475 ± 8.5	626.8 ± 5.5	2499 ± 4.3
LE	413.3 ± 3.6	34.15 ± 2.3	55.44 ± 2.9
Ascorbic acid	328.7 ± 6.1	27.83 ± 1.6	43.54 ± 2.1

Values are expressed as mean ± standard deviation. Ascorbic acid was used as positive control. IC₅₀: sample concentration capable of inhibit the oxidant agent presence or effect in 50%. ABTS⁺: 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline). DPPH: 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl

Table 3 Sun protection factor (SPF) values for the saline extracts from stem (SE) and leaves (LE) of *P. elatior* at different concentrations

Extract concentration (μg/mL)	SPF	
	SE	LE
12.5	0.56	2.27
25.0	0.97	3.43
50.0	1.66	12.95
100.0	3.34	17.03

activities. The literature also reports different plant proteins with antioxidant capacity by inhibiting lipid peroxidation as well as neutralizing harmful free radicals [23]. Furthermore, it has been reported that the position of amino acids

Table 4 Hematological parameters of mice treated orally or topically (dermal application) with saline extract from leaves of *Portulaca elatior*

Parameters	Oral administration			Dermal application		
	Control	1000 mg/kg	2000 mg/kg	Control	1000 mg/kg	2000 mg/kg
Erythrocytes ($10^6/\text{mm}^3$)	6.8 ± 0.76	6.1 ± 0.47	7.06 ± 0.12	7.00 ± 0.25	7.00 ± 0.44	5.72 ± 0.71
Hematocrit (%)	45.9 ± 0.36	46.13 ± 0.29	41.92 ± 3.13	46.19 ± 0.53	46.19 ± 0.53	42.33 ± 4.46
Hemoglobin (%)	15.4 ± 1.77	16.43 ± 0.5	15.79 ± 0.63	16.49 ± 0.53	16.49 ± 0.53	16.31 ± 0.83
MCV (%)	44.03 ± 2.77	46.55 ± 0.98	59.11 ± 11.36*	46.27 ± 0.57	46.27 ± 0.57	44.34 ± 4.04
MCH (%)	17.64 ± 0.28	17.49 ± 0.20	22.59 ± 4.23	17.62 ± 0.31	17.62 ± 0.31	17.94 ± 0.20
MCHC (%)	35.73 ± 3.2	37.89 ± 0.11	37.92 ± 0.26	37.95 ± 0.08	37.95 ± 0.08	36.29 ± 1.85
Leukocytes ($10^3/\text{mm}^3$)	7.07 ± 0.19	10.70 ± 0.51	7.97 ± 2.53	7.24 ± 0.43	7.24 ± 0.43	7.28 ± 0.84
Segmented (%)	49.96 ± 0.54	50.81 ± 0.52	52.34 ± 2.60	50.72 ± 1.2	50.72 ± 1.2	50.39 ± 1.56
Lymphocytes (%)	38.76 ± 0.3	37.54 ± 1.	32.2 ± 5.9*	37.57 ± 1.82	37.57 ± 1.82	35.16 ± 1.42
Monocytes (%)	11.26 ± 0.30	11.64 ± 0.62	15.44 ± 3.38	11.71 ± 0.66	11.71 ± 0.66	13.45 ± 1.79

Values are expressed as mean ± standard deviation. (*) $p > 0.05$ in comparison with control. MCV: mean corpuscular volume. MCH: mean corpuscular hemoglobin. MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration

Table 5 Biochemical parameters in blood of mice from oral and dermal toxicity assays with saline extract of leaves of *Portulaca elatior*

Parameters	Oral administration			Dermal application		
	Control	1000 mg/kg	2000 mg/kg	Control	1000 mg/kg	2000 mg/kg
Albumin (g/dL)	25.92 ± 1.6	25.50 ± 0.82	25.41 ± 1.71	29.58 ± 2.56	29.58 ± 2.56	27.028 ± 6.26
ALT (U/L)	66.88 ± 1.0	69.85 ± 4.35	66.5 ± 1.56	68.37 ± 7.50	68.37 ± 7.50	63.182 ± 9.44
AST (U/L)	102.6 ± 3.8	97.56 ± 2.4	104.71 ± 6.09	107.55 ± 22.09	107.55 ± 22.09	87.31 ± 20.82
Alkaline phosphatase (IU/L)	11.83 ± 0.82	9.91 ± 2.8	12.53 ± 0.90	10.61 ± 1.83	10.61 ± 1.83	6.722 ± 2.37
GGT (U/L)	9.59 ± 0.58	9.22 ± 0.43	9.54 ± 1.39	9.487 ± 2.02	9.487 ± 2.02	6.622 ± 1.77
Total protein (g/dL)	46.96 ± 3.8	46.09 ± 3.11	42.72 ± 2.80	50.86 ± 9.5	50.86 ± 9.5	40.95 ± 10.13
BUN (mg/dL)	3.58 ± 0.2	3.57 ± 0.11	3.56 ± 0.24	3.939 ± 0.33	3.939 ± 0.33	3.668 ± 1.26
Creatinine (mg/dL)	5.01 ± 0.1	4.49 ± 0.26	4.37 ± 0.09	5.232 ± 0.74	5.232 ± 0.74	3.7 ± 1.56
Bilirubin	0.26 ± 0.05	0.25 ± 0.70	0.23 ± 0.04	0.44 ± 0.07	0.44 ± 0.07	0.31 ± 0.09

Values are expressed as mean ± standard deviation. No significant differences ($p > 0.05$) were found. ALT = alanine aminotransferase; AST = aspartate aminotransferase; BUN = blood urea nitrogen; GGT = gamma-glutamyl transferase

in the protein chains, as well as their composition, influence the antioxidant activity of the molecule since aromatic and polar amino acids such as arginine and histidine are able to potentiate the antioxidant activity of the macromolecule [24, 25]. Gao et al. [26], who phytochemically characterized an ethanol extract of the aerial parts of *Portulaca oleracea*, demonstrated the presence of flavonoids, terpenes, and polysaccharides similar to those found by us for SE and LE.

Although the presence of ellagic tannin could account for the antioxidant activity of SE, it was not present in LE, which showed the highest effect. Thus, the higher antioxidant activity of LE in comparison with SE can be explained by the higher levels of proteins (1.6 times higher) and flavonoids, whose concentration was 30.3 times higher. The antioxidant activity of plant species is typically associated with the presence of compounds belonging to proteins and phenols [27]. The antioxidant activity of plant species is typically associated with the presence of compounds belonging to proteins and phenols [27]. The mechanisms of the antioxidant action of these compounds vary, being triggered by the removal of free radicals from the environment by absorption and neutralization, scavenging of ROS and

catalyst metals, or even by the interaction of more than one mechanism [28, 29]. An important next step would be to evaluate whether LE has antioxidant activity in human cells.

The mechanism of free radical generation in the body may be of endogenous or exogenous origin. Mechanisms of endogenous origin occur mainly in the mitochondria, cell membranes, and cytoplasm and may be favored in the presence of iron and copper ions. The exogenous sources of free radicals are smoking, chemotherapy, and exposure to UV rays [30]. Ultraviolet rays can react with skin cells, triggering the production of reactive oxygen species and causing damage to nuclear and mitochondrial DNA [31]. Thus, owing to the intrinsic relationship between oxidative processes and damage caused by photoexposure, the photoprotective activity of saline extracts of *P. elatior* was evaluated. LE presented more than double the minimum SPF (SPF = 6) required for topical photoprotective formulations according to the Brazilian Ministry of Health and the Mercosul technical regulation on sunscreens and cosmetics [32]. On the other hand, the absence of photoprotective activity in SE may be associated with a lower concentration of secondary compounds [33].

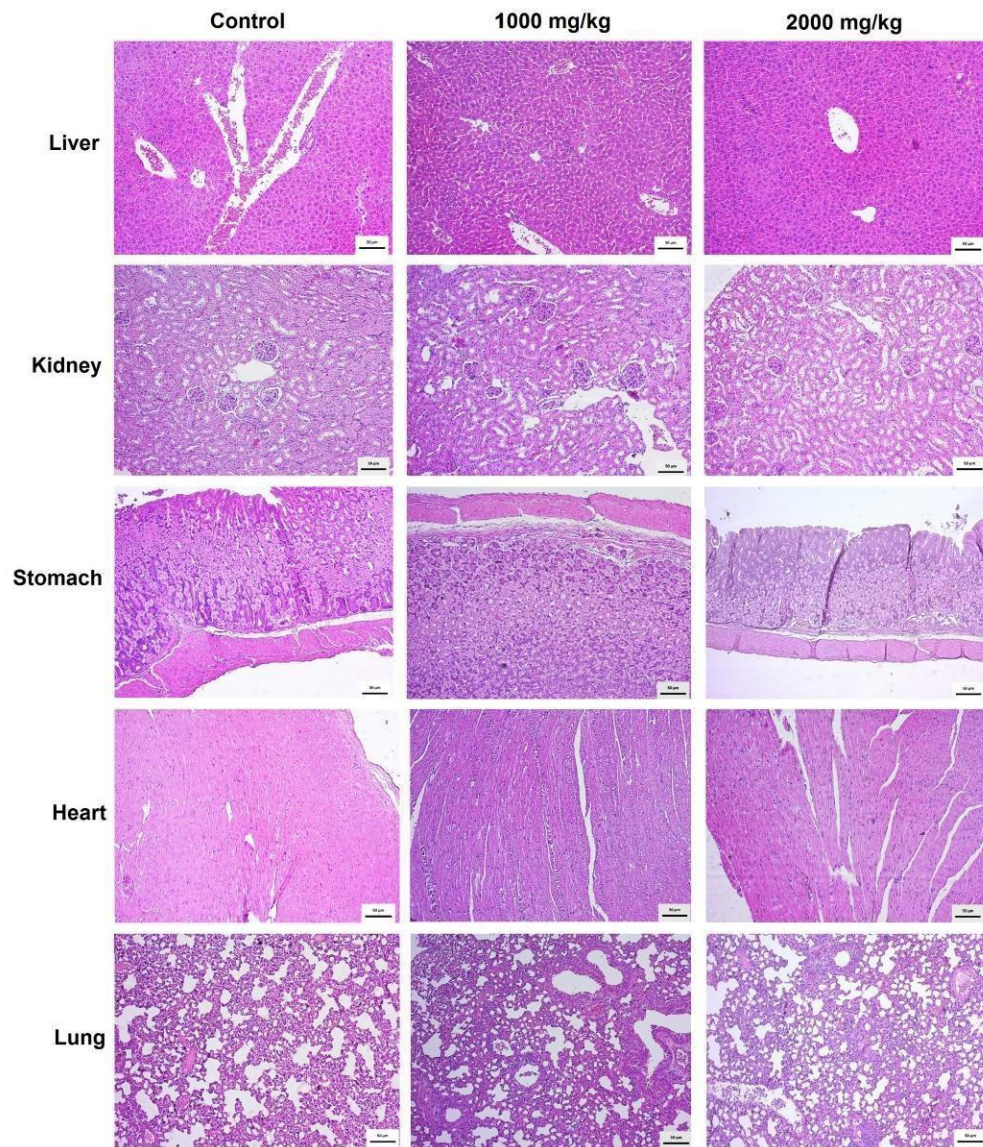


Fig. 2 Photomicrographies of liver, kidneys, stomach, heart, and lung sections from control animals and mice treated with saline extract of *P. elatior* leaves at 1000 and 2000 mg/kg. Control: liver with preserved homogeneous parenchyma and capsule; kidneys with nephrons and tubules without structural and cellular changes; stomach with mucosa, submucosa, muscle fibers and serosa without alterations, absence of infiltrates and degenerative and necrotic alterations; heart with pre-

served parenchyma and muscle fibers; and lung with preserved capsule, absence of infiltrates, degenerative and necrotic changes. Treatments with the extract (1000 and 2000 mg/kg): the same characteristics of the control group are observed, except for the kidneys, which present nephrons and tubules without structural and cellular alterations, but with slight variation in Bowman's space

Table 6 Evaluation of edema, erythema and hair growth in mice after topical application of saline extract from *Portulaca elatior* leaves

Treatment	Edema and erythema formation														Hair growth						
	Days														Days						
	2	4	6	8	10	12	14	2	4	6	8	10	12	14	2	4	6	8	10	12	14
Control																					
Animal 1	--	--	--	--	--	--	--	P1	P1	P2	P2	P3	P3	P3	P1	P1	P2	P2	P3	P3	P3
Animal 2	--	--	--	--	--	--	--	P0	P1	P1	P2	P2	P2	P2	P0	P1	P1	P2	P2	P2	P2
Animal 3	--	--	--	--	--	--	--	P2	P2	P2	P3	P3	P3	P4	P2	P2	P3	P3	P3	P4	P4
Animal 4	--	--	--	--	--	--	--	P2	P2	P2	P2	P2	P3	P3	P2	P2	P2	P2	P3	P3	P3
Animal 5	--	--	--	--	--	--	--	P0	P0	P1	P1	P2	P2	P2	P0	P0	P1	P1	P2	P2	P2
Extract 1000 mg/kg																					
Animal 6	--	--	--	--	--	--	--	P2	P2	P2	P3	P3	P3	P4	P2	P2	P2	P3	P3	P3	P4
Animal 7	--	--	--	--	--	--	--	P1	P1	P1	P1	P1	P1	P1	P1	P1	P1	P1	P1	P1	P1
Animal 8	--	--	--	--	--	--	--	P1	P1	P1	P1	P1	P1	P1	P1	P1	P1	P1	P1	P1	P1
Animal 9	--	--	--	--	--	--	--	P0	P1	P1	P1	P1	P1	P1	P0	P1	P1	P1	P1	P1	P2
Animal 10	--	--	--	--	--	--	--	P1	P1	P1	P1	P1	P1	P1	P1	P1	P1	P1	P1	P1	P1
Extract 2000 mg/kg																					
Animal 11	E1	E1	E1	E0	E0	E0	E0	P0	P0	P0	P0	P1	P2	P3	P0	P0	P0	P1	P1	P2	P3
Animal 12	--	--	--	--	--	--	--	P1	P2	P2	P3	P3	P3	P4	P1	P2	P2	P3	P3	P4	P4
Animal 13	--	--	--	--	--	--	--	P0	P0	P0	P1	P2	P3	P4	P0	P0	P1	P2	P3	P4	P4
Animal 14	S2	S2	S1	S0	S0	S0	S0	P0	P0	P1	P2	P2	P2	P3	P0	P0	P1	P2	P2	P3	P3
Animal 15	--	--	--	--	--	--	--	P2	P2	P3	P3	P3	P3	P4	P2	P2	P3	P3	P3	P4	P4

P1: No apparent hair growth, P2: Initial stage of hair growth, P3: Localized hair growth, with the appearance of flaws, P4: Advanced hair growth with few visible flaws, P1 to P4 patterns can be seen in Fig. S1, E0: Intact skin without edema formation, E1: Formation of initial edema, E2: Moderate edema, E3: Well-defined edema, SO: Intact skin, S1: Initial formation of erythema, S2: Moderate erythema, S3: Well-defined erythema

Flavonoids are the most evaluated class of secondary metabolites for photoprotective effect owing to the presence of two aromatic rings in their structure with two absorption bands (bands I: 240–280 nm; band II: 300–550 nm) that guarantee a broad absorption spectrum and can trigger protection against UVA and UVB radiation. Moreover, structures containing electron-donating aromatic rings can absorb excited unsaturated electrons that release absorbed excess energy in the form of heat upon returning to the ground state. In addition to functioning as UV blockers, flavonoids can also reduce the inflammatory response and oxidative stress induced by UV radiation. Thus, flavonoids can promote protection against the effects of the sun by inhibiting or accelerating the removal of induced photoproducts, as they act by neutralizing superoxide, hydroxyl, and lipid peroxide radicals [34–36]. Studies have suggested synergism between the ingestion of oral antioxidants and the use of topical sunscreens in the control of damage caused by photoexposure [37].

LE showed significantly higher photoprotective and antioxidant activities than SE. Therefore, LE was selected for toxicity evaluation tests to produce data that could be used in future studies to generate formulations. This extract showed extremely low hemolytic capacity, mainly when compared to plant extracts from other plants such as *Croton bonplandianum* (EC₅₀: 150 µg/mL) [38] and *Spondias tuberosa* (EC₅₀: 740.8 µg/mL) [39]. In addition, studies have reported that flavonoids have anti-hemolytic activity [40, 41] because of their ability to bind to the membranes of erythrocytes, protecting them from hypotonic lysis and lipid peroxidation [42].

Regarding the assessment of in vivo LE toxicity, the evaluation of weight gain, water, and food consumption is a valuable tool in determining the safe use of a compound since a reduction in body weight can be related to reduced appetite, as well as nutritional deficits associated with deficiencies in the absorption of micronutrients, vitamins, and minerals due to intoxication. Water and nutrient intakes are essential for the maintenance of homeostasis in physiological processes [43]. Thus, our results suggest that LE has low toxicity.

As mentioned, animals treated with 2000 mg/kg showed an increase in MCV and a reduction in the number of lymphocytes. The increase in MCV can be related to diverse types of anemia, such as macrocytic and hemolytic anemia [44]. However, no changes were observed in hematocrit, MCH, MCHC, or erythrocyte and hemoglobin counts, which is evidence against the development of anemia [45]. Lymphocytopenia can be associated with infections of viral origin, malnutrition, bone marrow damage, and hepatitis [46, 47]. However, according to the observed results, the animals did not show a reduction in weight or water intake,

and the histological data did not indicate changes in organs related to infections. Finally, parameters obtained regarding the levels of eosinophils and basophils did not show significant differences in the LE group compared with the negative control group.

Orally administered substances are absorbed by the gastrointestinal tract and metabolized in the liver. Thus, the ability to induce acute or chronic liver disease is a frequent reason for discontinuing drug development and evaluation during or after preclinical studies [48, 49]. In the present study, no changes were observed in the serum concentrations of liver enzymes in animals treated orally with both doses of LE. Anusha et al. [50] reported the absence of toxicity of the aqueous extract of aerial parts of *P. oleracea* administered orally to mice and demonstrated the hepatoprotective effect of this preparation against the induction of liver injury with carbon tetrachloride.

Studies report the toxicity of *P. elatior* “in natura” against goats [51] and cattle, where two out of five cattle died approximately 18 h after feeding on *P. elatior* [52]. In the present study, no mouse lethality was caused by LE, and toxicity symptoms were absent in mice treated orally or subcutaneously. Our data suggest that the possible molecules involved in the toxicity of *P. elatior* “in natura” were not extracted by saline solution or were present at concentrations below those necessary to trigger toxicological changes.

Regarding the evaluation of LE dermal toxicity, the results indicate that LE does not cross the skin's surface and does not reach the systemic circulation of the animal, or if it exceeds the transdermal layers, it does not cause any trace of toxicity [53]. The scratching behavior observed may also be associated with irritation and burning [54]. Erythema associated with cellular infiltration and epithelial erosion followed by edema is the main feature of acute inflammatory reactions in skin irritation tests [55]. Finally, the induction of hair growth by plant extracts may be associated with the increased expression of hair growth-promoting genes, including keratinocyte growth factors. A similar effect was reported by Junlatat et al. [56] in the treatment of mice with an ethanolic extract of *Carthamus tinctorius*.

In conclusion, saline extracts from the leaves and stems of *P. elatior* have antioxidant activity, while the leaf extract showed photoprotective activity. The most potent activities obtained for the leaf extract to the detriment of the stem extract may be related to the higher concentration of phenolic compounds, flavonoids, and proteins. Furthermore, the leaf extract did not cause acute oral or dermal toxicity in Swiss mice treated with a dose of 1000 mg/kg. However, it showed only slight toxicity in animals treated with 2000 mg/kg.

Supplementary Information The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1007/s43188->

022-00160-2.

Acknowledgements The authors express their gratitude to the *Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico* (CNPq) for financial support (407192/2018–2) and investigator research grants (PMGP and THN). We are also grateful to the *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior* (CAPES; Finance Code 001) and the *Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco* (FACEPE: APQ 0108–2.08/14) for financial support. SPS would like to thank CAPES for the graduate scholarship.

Declarations

Conflict of interest The authors declare no conflicts of interest.

References

- Santos-Sánchez NF et al (2019) Antioxidant compounds and their antioxidant mechanism. In Shalaby E (ed), *Antioxidants*. IntechOpen, London. <https://doi.org/10.5772/intechopen.85270>
- Velloso JCR et al (2021) Estresse oxidativo: uma introdução ao estado da arte. *Brazilian Int J Dev* 7:10152–10168. <https://doi.org/10.34117/bjdv7n1-688>
- Bouhajib R et al (2020) Chemical composition analysis, antioxidant, and antibacterial activities of eggplant leaves. *Chem Biodiver* 17:e2000405. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202000405>
- Radice M et al (2016) Herbal extracts, lichens and biomolecules as natural photo-protection alternatives to synthetic UV filters. A systematic review. *Fitoterapia* 114:144–162. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2016.09.003>
- Silva NCS, Vitor AM, Bessa HHS, Barros RMS (2017) A utilização de plantas medicinais e fitoterápicos em prol da saúde. *Única Cadernos Acadêmicos* 3
- Silva JDF et al (2019) *Portulaca elatior* root contains a trehalose-binding lectin with antibacterial and antifungal activities. *Int J Biol Macromol* 126:291–297. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.188>
- Silva SP, Silva JDF, Costa CBL et al (2021) Purification, characterization, and assessment of antimicrobial activity and toxicity of *Portulaca elatior* leaf lectin (PeLL). <https://doi.org/10.1007/s12602-021-09837-w>. *Probiotics Antimicrob Prot*
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ (1951) Protein measurement with the Folin-Phenol reagent. *J Biol Chem* 193:265–276. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)52451-6)
- Singleton VL, Rossi JA (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic* 16:144–158
- Woisky RG, Salatino A (1998) Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. *J Apic Res* 37:99–105. <https://doi.org/10.1080/00218839.1998.11100961>
- Young IS (2001) Measurement of total antioxidant capacity. *J Clin Pathol* 54:339. <https://doi.org/10.1136/jcp.54.5.339>
- Mishra K, Ojha H, Chaudhury NK (2012) Estimation of anti-radical properties of antioxidants using DPPH- assay: a critical review and results. *Food Chem* 130:1036–1043. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.07.127>
- Nenadis N, Wang LF, Tsimidou M, Zhang HY (2004) Estimation of scavenging activity of phenolic compounds using the ABTS + assay. *J Agric Food Chem* 52:4669–4674. <https://doi.org/10.1021/jf0400056>
- Mansur JDS et al (1986) Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. *An Bras Dermatol* 61:121–124
- Malagoli D (2007) A full-length protocol to test hemolytic activity of palytoxin on human erythrocytes. *Invertebr Surviv J* 4:92–94
- OECD (2002) Test No. 423: Acute oral toxicity - acute toxic class Method, OECD Guidelines for the testing of Chemicals, Sect. 4. OECD Publishing, Paris. <https://doi.org/10.1787/978926407>
- OECD (2017) Test No. 402: Acute dermal toxicity, OECD Guidelines for the testing of Chemicals, Sect. 4. OECD Publishing, Paris. <https://doi.org/10.1787/9789264070585-en>
- Malone MH (1977) Pharmacological approaches to natural product screening and evaluation. New natural products and plant drugs with pharmacological, biological or therapeutic activity. Springer, Berlin, Heidelberg, pp 23–53
- Gnanadhas DP, Thomas M, Thomas R, Raichur AM, Chakravorty D (2013) Interaction of silver nanoparticles with serum proteins affects their antimicrobial activity in vivo. *Antimicrob Agents Chemother* 57:4945–4955. <https://doi.org/10.1128/AAC.00152-13>
- Calderon LA, Sobrinho JC, Zaqueo KD, Moura AA, Grabner AN, Mazzi MV, Marcussi S, Nomizo A, Fernandes CFC, Zuliani JP, Carvalho BMA, Siars AM (2014) Antitumoral activity of snake venom proteins: New trends in cancer therapy. *Biomed Res Int* 2014:203639. <https://doi.org/10.1155/2014/203639>
- Sahin B et al (2018) Characterization of *Bacillus thuringiensis* isolates by their insecticidal activity and their production of Cry and Vip3 proteins. *PLoS ONE* 13:e0206813. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206813>
- Verma AK, Chatli MK, Kumar P, Mehta N (2019) Antioxidant and antimicrobial activity of porcine liver hydrolysate in meat emulsion and their influence on physico-chemical and color deterioration during refrigeration storage. *J Food Sci* 84:1844–1853. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14683>
- Campos MTG, Leme FOP (2018) Estresse oxidativo: fisiopatogenia e diagnóstico laboratorial. *Pubvet* 12:1–8. <https://doi.org/10.22256/pubvet.v12n1a10.1-8>
- Luna-Vital DA, Mojica L, Mejía EG, Mendoza S, Loarca-Piña G (2015) Biological potential of protein hydrolysates and peptides from common bean (*Phaseolus vulgaris* L.): a review. *Food Res Int* 76:39–50. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.11.024>
- Zhang J et al (2009) Antioxidant activities of the rice endosperm protein hydrolysate: identification of the active peptide. *Eur Food Res Technol* 229:709–719. <https://doi.org/10.1007/s00217-009-1103-3>
- Gao S et al (2020) Effects of dietary supplementation of natural astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* on antioxidant capacity, lipid metabolism, and accumulation in the egg yolk of laying hens. *Poult Sci* 99:11:5874–5882. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.08.029>
- Vieira DS et al (2021) Atividades biológicas: anti-infecciosa, antioxidante e cicatrizante da espécie vegetal *Jatropha multifida*. *Rev Bras Enferm* 74. <https://doi.org/10.1590/0034-7167-2020-0451>
- Santos JL et al (2020) Probing structural properties and antioxidant activity mechanisms for eleocarpanthraquinone. *J Mol Model* 26:1–8. <https://doi.org/10.1007/s00894-020-04469-3>
- Oliszowy M (2019) What is responsible for antioxidant properties of polyphenolic compounds from plants? *Int J Plant Physiol Biochem* 144:135–143. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.09.039>
- Ifeanyi OE (2018) A review on free radicals and antioxidants. *Int J Curr Res Med Sc* 4:123–133. <https://doi.org/10.22192/ijcrms.2018.04.02.019>
- Souza JC, Rescarolli CLS, Nunez CV (2018) Produção de metabólitos secundários por meio da cultura de tecidos vegetais. *Revista Fitos* 12:269. <https://doi.org/10.17648/2446-4775.2018.550>
- Addor FAS et al (2022) Sunscreen lotions in the dermatological prescription: review of concepts and controversies. *An Bras Dermatol* 97:204–222. <https://doi.org/10.1016/j.abd.2021.05.012>

33. Elmastas M et al (2018) Antioxidant activity of an anatolian herbal tea—*Origanum minutiflorum*: isolation and characterization of its secondary metabolites. *Int J Food Prop* 21:374–384. <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1416399>
34. Saewan N, Jimtaisong A (2013) Photoprotection of natural flavonoids. *J Appl Pharm Sci* 9:129–141. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2013.3923>
35. Nunes AR et al (2018) Use of flavonoids and cinnamates, the main photoprotectors with natural origin. *Adv Pharmacol Sci* 2018: 5341487 <https://doi.org/10.1155/2018/5341487>
36. Saewan N, Jimtaisong A (2015) Natural products as photoprotection. *J Cosmet Dermatol* 14:47–63. <https://doi.org/10.1111/jocd.12123>
37. Gontijo DC, Nunes LG, Farias LM, Duarte MGR, Carvalho AF, Fietto LG, Leite JPV (2020) Assessment of the phenolic content, mutagenicity and genotoxicity of ethanolic extracts of stem bark and leaves from *Strychnos pseudoquina* A. St.-hil. *Drug Chem Toxicol* 43:539–545. <https://doi.org/10.1080/01480545.2018.1515218>
38. Ghosh T, Biswas MK, Roy P, Guin C (2018) A review on traditional and pharmacological uses of *Croton bonplandianum* with special reference to phytochemical aspect. *Eur J Med Plants* 22:1–10. <https://doi.org/10.9734/EJMP/2018/40697>
39. Cordeiro BMPC, Carvalho Junior AR, Santos JRA, Araújo AD, Silva AG, Correia MTS, Silva MV, Napoleão TH, Silva LCN, Santos NDL, Paiva PMG (2020) Anticryptococcal activity of hexane extract from *Spondias tuberosa* Arruda and associated cellular events. *J Mycol Med* 30:100965. <https://doi.org/10.1016/j.mymed.2020.100965>
40. Rashid MA et al (2018) Chemical composition and antioxidant, antimicrobial and haemolytic activities of *Crambe cordifolia* roots. *Farmacia* 66:165–171
41. Chaudhuri S et al (2007) Interaction of flavonoids with red blood cell membrane lipids and proteins: antioxidant and antihemolytic effects. *Int J Biol Macromol* 41:42–48. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2006.12.003>
42. Alínezhad H, Azimi R, Zare M, Ebrahimzadeh MA, Eslami S, Nabavi SE, Nabavi SM (2013) Antioxidant and antihemolytic activities of ethanolic extract of flowers, leaves, and stems of *Hyssopus officinalis* L. var. *angustifolius*. *Int J Food Prop* 16:1169–1178. <https://doi.org/10.1080/10942912.2011.578319>
43. Teke GN, Kuete V (2014) Acute and subacute toxicities of African medicinal plants. In: Kuete V (ed) *Toxicological Survey of African Medicinal Plants*, Elsevier, pp. 63–98. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800018-2.00005-4>
44. Maner BS, Moosavi L (2022) Mean Corpuscular volume. StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL)
45. Failace R (2015) Hemograma: manual de interpretação. Artmed Editora, Rio de Janeiro
46. Arsanios DM et al (2021) Criptococosis y linfocitopenia T CD4 idiopática: Reporte de un caso. *Infectio* 25:49–54. <https://doi.org/10.22354/in.v25i1.909>
47. Cataldo F, Warleu F, Otero V, Kohan D, Odstreil S, Brulc E (2021) Linfoma T/NK EBER positivo en paciente con linfocitopenia CD4 idiopática. *Medicina* 81:458–461
48. Licata A (2016) Adverse drug reactions and organ damage: the liver. *Eur J Int Med* 28:9–16. <https://doi.org/10.1016/j.ejim.2015.12.017>
49. Almazroo O, Abdulhameed M, Mohammad K, Venkataramanan R (2020) Drug metabolism in the liver. *Clin Liver Dis* 21:1–20. <https://doi.org/10.1016/j.cld.2016.08.001>
50. Anusha M, Venkateswarlu M, Prabhakaran V, Taj SS, Kumari BP, Ranganayakulu D (2011) Hepatoprotective activity of aqueous extract of *Portulaca oleracea* in combination with lycopene in rats. *Indian J Pharmacol* 43:563. <https://doi.org/10.4103/0253-7613.84973>
51. Galiza GJ, Pimentel LA, Oliveira DM, Pierezan F, Dantas AF, Medeiros RM, Riet-Correa F (2011) Intoxicação por *Portulaca elatior* (Portulacaceae) em caprinos. *Pesq Vet Bras* 31:465–470. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.188>
52. Oliveira Neto TS et al (2017) Intoxicação por *Portulaca elatior* (Portulacaceae) em bovinos. *Pesq Vet Bras* 37:785–789. <https://doi.org/10.1590/s0100-736x2017000800001>
53. Shingade GM (2012) Review on: recent trend on transdermal drug delivery system. *J Drug Deliv Ther* 2:10–18. <https://doi.org/10.22270/jddt.v2i1.74>
54. Jin SE, Kim EJ, Kim H, Kim H, Hwang W (2020) In vitro and in vivo toxicological evaluation of transition metal-doped titanium dioxide nanoparticles: Nickel and platinum. *Mater Sci Eng C* 115:110843. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.110843>
55. Novak-Bilić G et al (2018) Irritant and allergic contact dermatitis—skin lesion characteristics. *Acta Clin Croat* 57:713–719. <https://doi.org/10.20471/acc.2018.57.04.13>
56. Junlatat J et al (2014) Hair growth-promoting effect of *Carthamus tinctorius* Floret extract. *Phytother Res* 28:1030–1036. <https://doi.org/10.1002/ptr.5100>

Publisher's Note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Springer Nature or its licensor (e.g. a society or other partner) holds exclusive rights to this article under a publishing agreement with the author(s) or other rightsholder(s); author self-archiving of the accepted manuscript version of this article is solely governed by the terms of such publishing agreement and applicable law.

3.2 Artigo 2

Probiotics and Antimicrobial Proteins
<https://doi.org/10.1007/s12602-021-09837-w>



Purification, Characterization, and Assessment of Antimicrobial Activity and Toxicity of *Portulaca elatior* Leaf Lectin (PeLL)

Suellen Pedrosa da Silva¹ · José Dayvid Ferreira da Silva¹ · Clarice Barbosa Lucena da Costa¹ · Pollyanna Michelle da Silva¹ · Anderson Felipe Soares de Freitas¹ · Carlos Eduardo Sales da Silva¹ · Abdênego Rodrigues da Silva¹ · Alisson Macário de Oliveira¹ · Roberto Araújo Sá² · Ana Rosa Peixoto³ · Ana Patrícia Silva de Oliveira¹ · Patrícia Maria Guedes Paiva¹ · Thiago Henrique Napoleão¹

Accepted: 11 August 2021

© The Author(s), under exclusive licence to Springer Science+Business Media, LLC, part of Springer Nature 2021

Abstract

Lectins are carbohydrate-binding proteins with several bioactivities, including antimicrobial properties. *Portulaca elatior* is a species found at Brazilian Caatinga and data on the biochemical composition of this plant are scarce. The present work describes the purification of *P. elatior* leaf lectin (PeLL) as well as the assessment of its antimicrobial activity and toxicity. PeLL, isolated by chromatography on a chitin column, had native liquid charge and subunit composition evaluated by electrophoresis. Hemagglutinating activity (HA) of PeLL was determined in the presence of carbohydrates or divalent cations, as well as after heating and incubation at different pH values. Changes in the lectin conformation were monitored by evaluating intrinsic tryptophan fluorescence and using the extrinsic probe bis-ANS. Antimicrobial activity was evaluated against *Pectobacterium* strains and *Candida* species. The minimal inhibitory (MIC), bactericidal (MBC), and fungicidal (MFC) concentrations were determined. Finally, PeLL was evaluated for in vitro hemolytic activity in human erythrocytes and in vivo acute toxicity in mice (5 and 10 mg/kg b.w. per os). PeLL (pI 5.4; 20 kDa) had its HA inhibited by mannose, galactose, Ca²⁺, Mg²⁺, and Mn²⁺. PeLL HA was resistant to heating at 100 °C, although conformational changes were detected. PeLL was more active in the acidic pH range, in which no conformational changes were observed. The lectin presented MIC and MBC of 0.185 and 0.74 µg/mL for all *Pectobacterium* strains, respectively; MIC of 1.48 µg/mL for *C. albicans*, *C. tropicalis*, and *C. krusei*; MIC and MFC of 0.74 and 2.96 µg/mL for *C. parapsilosis*. No hemolytic activity or signs of acute toxicity were observed in the mice. In conclusion, a new, low-toxic, and thermostable lectin was isolated from *P. elatior* leaves, being the first plant compound to show antibacterial activity against *Pectobacterium*.

Keywords Antibacterial activity · Antifungal activity · Phytopathogens · *Candida* · *Pectobacterium* · Lectin characterization

Introduction

Opportunistic fungi are the main etiologic agents of infections that affect immunocompromised individuals, especially those undergoing chemotherapy treatments, recently transplanted, or infected with HIV [1, 2]. For example, *Aspergillus*

fumigatus, *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, and species of the genera *Trichosporon* and *Cryptococcus* cause systemic mycoses [3].

Worldwide, *C. albicans* and *C. kusei* are among the most common species of the *Candida* genus isolated from superficial and invasive infections at different anatomical sites [4]. *C. tropicalis* and *C. krusei* have a high incidence in patients with neoplasms, mainly of the hematological type [5]. Some *Candida* strains have shown resistance to antifungal azoles due to increased production of transporters involved in the efflux of the drug and/or mutations in the enzyme that prevent the binding of the antifungal to the target. Cases of drug resistance to other antifungals, such as polyenes (e.g., amphotericin B), are less frequent; however, these drugs are highly toxic to humans [6, 7].

✉ Thiago Henrique Napoleão
 thiago.napoleao@ufpe.br

¹ Departamento de Bioquímica, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil

² Centro Acadêmico Do Agreste, Universidade Federal de Pernambuco, Caruaru, Pernambuco, Brazil

³ Departamento de Tecnologia E Ciências Sociais, Universidade Do Estado da Bahia, Juazeiro, Bahia, Brazil

Diseases caused by microorganisms have also been a problem in agriculture, reaching large proportions. Great crop losses are related to the action of phytopathogens, pest insects, poor packaging, and inadequate transport [8]. In Brazil, an annual loss of more than 125 million tons of beans, rice, wheat, potatoes, corn, and soybeans has been estimated to be caused by fungi, phytopathogenic bacteria, and pest insects [9]. The genus *Pectobacterium* includes Gram-negative phytopathogenic species belonging to the *Enterobacteriaceae* family and is involved in the pathogenesis of soft rot, which mainly affects vegetables [10]. Soft rot is directly associated with crop waste and increased spending on pesticides and fertilizers [11]. These bacteria release pectinolytic enzymes, which degrade the pectin within the cell wall of plants, causing tissue necrosis [12]. *Pectobacterium carotovorum* and its subspecies differ in terms of phenotypic and biochemical characteristics, as well as hosts that they can colonize [11, 13].

The use of pesticides is the main method employed for phytopathogen control, bringing benefits to rural producers in the short and medium term; however, in the long term, it can induce the emergence of resistant strains [14]. Studies have also shown that soil and water resources located close to agricultural planting areas can be contaminated by toxic products present in pesticides, such as dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT), benalaxyl, and even substances already banned in some countries, such as hexachlorocyclohexane [15, 16]. In addition, traces of toxic pesticides have been found in several food samples, exposing the population to poisoning [17].

Thus, the development of new strategies to combat agricultural pests and human pathogens, with reduced toxicity to the environment and humans, has been the focus of many studies [18]. The discovery of new antimicrobials can increase the possibility of rotation, minimizing the selection pressure that leads to the establishment of resistance [19]. Lectins are among the candidates for the development of new antimicrobial agents [20, 21].

Lectins are proteins that bind specifically and reversibly to carbohydrates. These proteins have several biomedical and biotechnological applications in the development of new antiviral, antimicrobial, anti-inflammatory, and antitumor agents; histochemical probe tools to assist the diagnosis and prognosis of diseases; drug delivery systems; biosensors; and insecticidal formulations [20, 22–24]. Lectins can interact with the cell wall and membrane compounds of microbial pathogens, thereby inhibiting their development through the induction of oxidative stress, damage to the cell surface, apoptosis, and necrosis, among other mechanisms of action [25].

The genus *Portulaca* comprises approximately 120 species of plants, with 13 species reported in Brazil. *Portulaca*

elatior is a species of this genus found in northeastern Brazil, especially in Bahia, Pernambuco, and Paraíba [26]. Data on this plant are scarce, especially when considering reports of isolated compounds. However, Silva et al. [27] reported that the roots of this plant contain a lectin called PeRoL, which shows antimicrobial activity against bacteria and fungi that are pathogenic to humans. PeRoL is a thermostable and trehalose-binding lectin that is not cytotoxic to human cells in vitro [27].

In this sense, the present work aimed to purify and characterize a new lectin from the leaves of *P. elatior* (named PeLL) and to assess its antimicrobial activity against *Pectobacterium* and *Candida* spp. Furthermore, PeLL was analyzed for in vitro hemolytic activity and in vivo acute toxicity in mice.

Materials and methods

Purification of *Portulaca elatior* Leaf Lectin (PeLL)

Extract Preparation

Leaves of *P. elatior* were collected in April 2018 at Aroeiras, Paraíba, Brazil, with authorization (no. 36301) of the Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) and registry (no. AD457F9) at the Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen). The leaves were then dried at 50 °C using a drying oven (Fanem, São Paulo, Brazil) for 6 h. The dried leaves were powdered, and the flour was homogenized on a magnetic stirrer (6 h at 4 °C) with 150 mM NaCl in a proportion of 5% (w/v). The suspension was filtered through qualitative cellulose filter paper and centrifuged (9000 × g, 15 min, 4 °C) to yield the leaf extract.

Hemagglutinating Activity (HA)

The presence of lectins in the samples throughout the purification process was evaluated by testing the HA in 96-well microtiter plates, according to Paiva and Coelho [28]. An aliquot (50 µL) of the sample was twofold serially diluted in 150 mM NaCl before adding 50 µL of a suspension (2.5%, v/v) of rabbit erythrocytes fixed with glutaraldehyde (collection method approved by the Ethics Committee on Animal Use of the Universidade Federal de Pernambuco; process no. 23076.033782/2015–70). The HA was expressed as the reciprocal of the largest dilution of the sample that promoted total hemagglutination. Specific HA was defined as the ratio between HA and the protein concentration (mg/mL).

Protein Concentration

Protein concentration was determined according to Lowry et al. [29] using a standard bovine serum albumin curve (31.25–500 µg/mL; Sigma-Aldrich, USA).

Fractionation and Chromatography

The leaf extract was subjected to protein fractionation using the technique of precipitation by ammonium sulfate at different saturations (0–20%; 20–40%; 40–60%; 60–80%), according to Green and Hughes [30]. After each step, the material was centrifuged (15 min, 5000 × g, 4 °C), and the precipitate and supernatant fractions were dialyzed against distilled water (4 h) and 150 mM NaCl (4 h) and evaluated for HA and protein concentration. The leaf extract was chromatographed (2 mL) on a column (7.5 × 1.5 cm) of chitin (Sigma-Aldrich) previously equilibrated with 150 mM NaCl. The fractions containing non-adsorbed proteins were collected, and the adsorbed proteins were eluted with 1.0 M acetic acid. After dialysis of the adsorbed fractions against distilled water (4 h) and 150 mM NaCl (4 h) for eluent removal, all chromatographic fractions were evaluated for HA and protein concentrations. The eluted fractions containing the adsorbed proteins corresponded to PeLL.

Characterization of PeLL

Polyacrylamide Gel Electrophoresis (PAGE) and Determination of Isoelectric Point

The homogeneity of PeLL (150 µg) was assessed by PAGE under native conditions for acidic [31] or basic [32] proteins. Staining was performed with 0.02% (w/v) Coomassie Brilliant Blue in 10% acetic acid or 1% (w/v) Amido Black in 10% (v/v) acetic acid. PeLL (150 µg) was also subjected to PAGE under denaturing conditions, in the presence of sodium dodecyl sulfate (SDS), according to Laemmli [33]. Molecular mass markers (bovine serum albumin, 66,000 Da; glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, 36,000 Da; carbonic anhydrase, 29,000 Da; trypsin inhibitor, 21,000 Da; α-lactalbumin, 14,200 Da; Sigma-Aldrich, USA) were used, and the gel was stained with 0.02% (w/v) Coomassie Brilliant Blue in 10% acetic acid.

The isoelectric point (pI) of PeLL was assessed using isoelectric focusing (IEF). For this, the lectin (150 µg) was solubilized in a rehydration solution (2% (w/v) CHAPS, 1% (v/v) IPG buffer pH 3–10, 0.002% (w/v) bromophenol blue) for 20 min at 28 °C. The sample was taken up into the strip (linear pH gradient 3–10; 7 cm) passively during rehydration for 16 h at 25 °C. The strip was submitted to IEF using the IPGPhor III system (GE Healthcare Life Sciences, Sweden) according to the manufacturer's instructions. Next, the strip

was transferred to the top of a polyacrylamide gel for the electrophoresis of acidic proteins and run to allow the protein to migrate from the strip to the gel. The gel was stained with 0.02% (w/v) Coomassie Brilliant Blue in 10% (v/v) acetic acid, and the pI was calculated using the software ImageMaster 2DPlatinum (GE Healthcare Life Sciences).

Effects of Carbohydrates, Temperature, pH, and Ions on HA

PeLL was characterized for carbohydrate-binding specificity using an HA inhibition assay. The lectin was incubated for 15 min at 28 °C with monosaccharides (200 mM), disaccharides (200 mM), or glycoprotein (0.5 mg/mL) solutions in 150 mM NaCl (Table 1) before the addition of erythrocytes. Next, the HA was determined as described above.

To evaluate its thermal stability, PeLL was incubated at different temperatures (30–100 °C) for 30 min before performing the HA assay. Additionally, PeLL samples were incubated at 100 °C for 6 h and then evaluated for HA. To investigate the effects of pH, the PeLL sample was incubated for 24 h at different pH values (3.0–12.0) before performing the hemagglutination assay. The following solutions were used: 10 mM glycine–HCl pH 3.0 and 4.0; 10 mM citrate phosphate buffer, pH 5.0 and 6.0; 10 mM sodium phosphate pH 7.0; 10 mM Tris–HCl, pH 8.0, 9.0, and 10.0; and NaOH pH 11.0 and 12.0. Finally, the HA of PeRoL was determined in the presence of divalent ions (Ca²⁺, Mg²⁺, and Mn²⁺). To assess this, the HA assay was performed using MgCl₂, MnCl₂, or CaCl₂ (20 and 40 mM) solutions instead of 150 mM NaCl.

Fluorometric Analysis

Changes in the conformation of PeLL caused by incubation at different pH values and after heating were evaluated through spectroscopic analysis measuring alterations in intrinsic fluorescence and the fluorescence of the extrinsic probe bis-ANS [(bis(8)-anilinonaphthalene-1-sulfonate)]. The fluorescence spectra of PeLL and bis-ANS were recorded using an FP-6300 spectrofluorometer (Jasco Corp.,

Table 1 Hemagglutinating activity (HA) of *Portulaca elatior* leaf lectin (PeLL) in the presence of carbohydrates (200 mM) or glycoprotein (1.0 mg/mL)

Carbohydrate/glycoprotein	Specific HA
Bovine serum albumin	540
Mannose	1081
Galactose	1081
Glucose	2162
N-Acetyl-glucosamine	2162

The HA of PeLL in the absence of carbohydrates and glycoproteins was 2162. HA was determined in rabbit erythrocytes

Japan). Intrinsic and extrinsic fluorescence was evaluated using excitation wavelengths of 280 and 360 nm, respectively. The emission spectra were recorded in the range of 300–400 nm and 400–600 nm, respectively.

Antimicrobial Activity

Determination of Minimal Inhibitory (MIC) and Bactericidal (MBC) Concentrations

The strains of *Pectobacterium carotovorum brasiliensis* (isolated from cabbage, UNEB 23), *Pectobacterium carotovorum carotovorum* (PJD II, UNEB 2), *Pectobacterium* sp. (isolated from arugula, UNEB 25), and *Pectobacterium* sp. (isolated from lettuce, UNEB 28) were obtained from the Culture Collection of the *Universidade do Estado da Bahia* (UNEB). The bacteria were inoculated in a nutrient-yeast extract-dextrose (NYD) medium and incubated at 37 °C for 16 h under agitation. The density of the cultures was adjusted turbidimetrically (optical density at 600 nm, OD₆₀₀) to 3×10^6 colony-forming units (CFU) per mL. The MIC was determined in 96-well microtiter plates. The NYD medium (80 µL) was added to all wells, and 100 µL of PeLL (0.1 mg/mL) was added to the third well and subjected to twofold serial dilution. Then, 20 µL of the microbial suspension was added to all wells except the first, which served as a sterility control. The plates were incubated for 24 h at 37 °C. The OD₆₀₀ was measured using a microplate spectrophotometer. The MIC was determined as the lowest concentration of PeLL necessary to reduce the bacterial burden (reduce the OD₆₀₀) by at least 50% compared to 100% by the growth control [34]. To investigate the bactericidal effect of PeLL, an aliquot of the content from the wells containing the lectin at concentration $\geq$ MIC was transferred to a Petri dish containing NYD agar medium, and the dish was incubated at 37 °C for 24 h. The concentration capable of reducing the number of CFU by 99.9%, compared to the initial *inoculum*, was recorded as the MBC.

Determination of Minimal Inhibitory (MIC) and Fungicidal (MFC) Concentrations

The fungal species *Candida albicans* (URM 5901), *C. kruzei* (URM 6351), *C. tropicalis* (URM 6551), and *C. parapsilosis* (URM 6345) were provided by the Culture Collection University Recife Mycologia from the *Departamento de Micologia* of *Universidade Federal de Pernambuco* (UFPE). The MIC and MFC were determined in a similar way to that described in the previous section but using Sabouraud-Dextrose Broth and Sabouraud-Dextrose-Agar (Sigma-Aldrich) as liquid and solid media, respectively. In addition, the incubation temperature and period were 30 °C and 48 h, respectively, in the assay with fungi.

Evaluation of the Toxicity of PeLL

Hemolytic Activity

Human blood samples (2–5 mL) were obtained from healthy volunteers after obtaining written informed consent, as approved by the Human Research Ethics Committee of UFPE (process 2.478.480). The blood samples were centrifuged (1500 rpm, 5 min) to obtain erythrocytes, which were washed three times with 150 mM NaCl [35]. In test tubes, 1.1 mL of erythrocyte suspension (2%, v/v) and 0.4 mL of PeLL were added at different concentrations (2.34–300 µg/mL). Saline solution was used as a negative control, and Quillaja saponin (0.0025%, w/v) was used as a positive control. After incubation for 60 min, the cells were centrifuged, and the absorbance of the supernatant was recorded at 540 nm. The following formula was applied: hemolytic activity (%) = $(A_s - A_{nc}) \times 100 / (A_{pc} - A_{nc})$, where A_{nc} = negative control absorbance; A_s = sample absorbance; A_{pc} = positive control (saponin) absorbance.

In Vivo Acute Toxicity

Acute toxicity of PeLL to mice was evaluated according to the protocol of the OECD [36]. The assay was approved by the Ethics Committee for Animal Use of UFPE (process no. 0081/2020). Fifty-day-old Swiss female mice (*Mus musculus*) weighing 30–40 g were obtained from the vivarium of the *Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami* (LIKA) of UFPE. The animals were acclimated for 1 week in the experimental laboratory located at the *Departamento de Bioquímica* from UFPE before being used in the assays. Mice were housed at a temperature of 22 °C, with a 12:12-light:dark cycle and ad libitum access to food (Purina, Nestlé Brasil Ltda., Brazil) and water.

Female mice were separated into three groups ($n = 3$ /group) that received a single dose by oral gavage. The first group of mice received only saline (control) and the other groups received PeLL at 5 or 10 mg/kg body weight (b.w.). Behavioral changes were assessed during the first 60 min after treatment administration and once daily for 14 days. The following parameters were evaluated: piloerection, stool appearance, sensitivity to sound and touch, mobility, and aggressive behavior. In addition, body weight and water and food intake were assessed daily. On post-treatment day 15, the mice were euthanized and blood was collected from the inferior vena cava [37] in two tubes: one containing the anticoagulant ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) and one tube without anticoagulant. An automated analyzer (Animal Blood Counter: ABC Vet, Montpellier, France) and a light microscope were used to evaluate the following hematological parameters: the number of erythrocytes, hemoglobin, hematocrit, mean corpuscular volume (MCV),

mean corpuscular hemoglobin (MCH), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC), and total and differentiated leukocyte analyses. Biochemical analysis of blood samples was performed to evaluate albumin, alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (AP), gamma-glutamyl transferase (GGT), total cholesterol, triglycerides, urea, and creatinine levels using specific kits (Labtest Diagnostic, Lagoa Santa, Brazil) and a COBAS Mira Plus analyzer (Roche Diagnostics Systems, Basel, Switzerland).

Statistical Analysis

The results are expressed as the mean of repetitions $\pm$ standard deviation (SD). Analysis of variance (ANOVA) was performed, followed by Bonferroni's test for multiple comparisons. The level of significance was set at $p < 0.05$.

Results

The extract from *P. elatior* leaves showed a protein concentration of 4.55 mg/mL and a specific HA of 0.439. The extract was then fractionated with ammonium sulfate at different saturations to separate the proteins based on their solubility and to possibly promote partial purification. However, neither the precipitated nor the supernatant fractions showed HA. Thus, the leaf extract was subjected to chitin column chromatography. The chromatographic profile (Fig. 1A) presented two peaks, the first corresponding to non-adsorbed proteins, which did not present HA, and the second peak

of adsorbed proteins eluted with acetic acid that showed a specific HA of 744.2 after dialysis. This finding indicates the high effectiveness of the isolation method, with a purification factor of 1695. PeLL showed a single polypeptide band in PAGE for native acidic proteins (Fig. 1B), whereas no bands were detected in electrophoresis for native basic proteins. These results demonstrated the homogeneity of the preparation and confirmed the isolation of PeLL. When evaluated by SDS-PAGE, PeLL showed a single polypeptide band of 20 kDa (Fig. 1C). The isoelectric point determined for PeLL was 5.4 (Fig. 1D), in agreement with the acidic nature determined by native PAGE.

Table 1 shows that the HA of PeLL was inhibited by mannose, galactose, and bovine serum albumin. However, glucose and *N*-acetylglucosamine did not inhibit the HA. When evaluating the effect of divalent cations, PeLL reduced HA in the presence of Mg^{2+} , Ca^{2+} , and Mn^{2+} (Fig. 2A). PeLL was shown to be a thermoresistant protein since its HA was maintained after incubation at all temperatures evaluated (Fig. 2B). In addition, when incubated at 100 °C for 6 h, PeLL HA remained stable during the first 3 h, was slightly stimulated after 4 h, and declined only after 5 h of heating. However, the HA remained active throughout the experimental period (Fig. 2C). The HA of PeLL was higher when this lectin was incubated in the acidic pH range, with the highest value at pH 4.0; in contrast, the HA was strongly reduced at pH 12.0 and was not detected at pH 7.0, 9.0, 10.0, and 11.0, respectively (Fig. 2D).

Native PeLL exhibited a maximum fluorescence emission at 345 nm, indicating the presence of tryptophan in

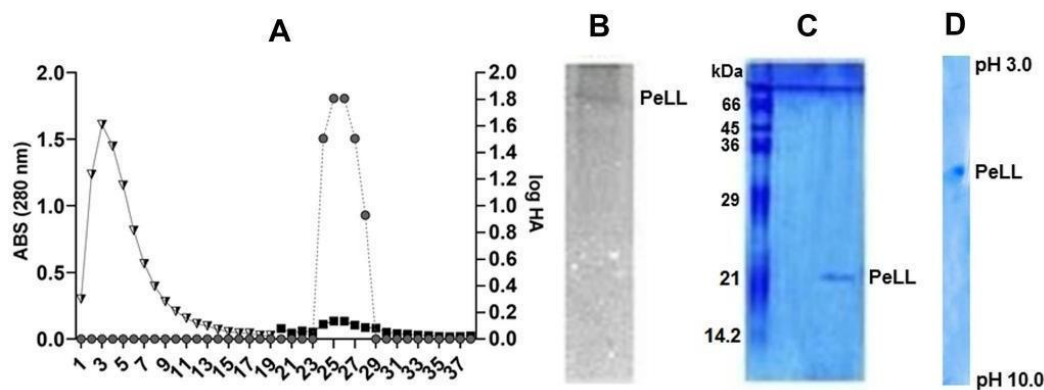


Fig. 1 Purification of *Portulaca elatior* leaf lectin (PeLL). **A** Chromatography of the leaf extract on a chitin column. The extract was washed with 150 mM NaCl, and PeLL was eluted with 1.0 M acetic acid. Fractions containing 2.0 mL PeLL were collected every 6 min and monitored for absorbance at 280 nm (inverted triangle or black square symbols) and hemagglutinating activity (HA; gray circles).

B Polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) of PeLL under native conditions for acidic proteins. **C** PAGE under denaturing conditions of PeLL. The lectin showed a single polypeptide band of ca. 20 kDa. **D** Isoelectric focusing of PeLL. A single band with an isoelectric point of 5.4 was observed

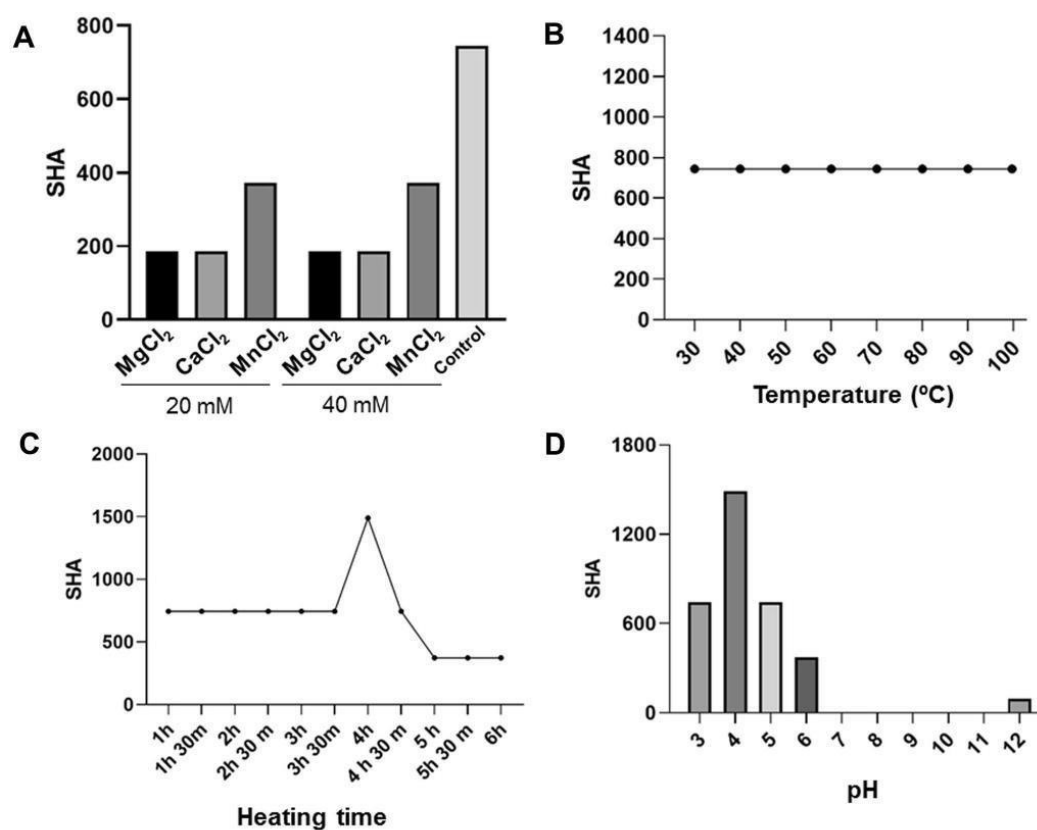


Fig. 2 Characterization of the hemagglutinating activity (HA) of *Portulaca elatior* leaf lectin (PeLL) under different conditions of temperature, pH, and concentration of cations. **A** PeLL was incubated with MgCl₂, MnCl₂, and CaCl₂, and its HA was evaluated. In the control test, the HA of PeLL was evaluated in 150 mM NaCl. **B**

PeLL was incubated for 30 min at temperatures ranging from 30 to 100 °C before HA evaluation. **C** PeLL samples were incubated for 6 h at 100 °C. **D** PeLL was incubated at different pH values (3.0–12.0) before the determination of HA; SHA, specific HA. In the control tests, the HA of PeLL was evaluated in 150 mM NaCl

a relatively hydrophobic region. The intrinsic tryptophan fluorescence of PeLL subjected to heating at 100 °C for 30 min did not show significant changes compared with the native state (Fig. 3A). However, after heating at 100 °C for 4 h, the maximum fluorescence emission of lectin shifted to 339 nm, suggesting that tryptophan residues moved to a more hydrophobic environment. After 5 and 6 h of heating, the fluorescence emission maximum returned to longer wavelengths (342 nm) but with lower intensity. This result can be explained by other conformational changes resulting in a decrease in the distance between the quencher groups.

When bis-ANS fluorescence was monitored after its incubation with PeLL, no significant alterations in the spectra obtained with native PeLL or lectin heated at 100 °C for 30 min were observed (Fig. 3B). However,

an increase in the bis-ANS fluorescence intensity was observed when it was incubated with PeLL and heated for 4, 5, and 6 h.

The tryptophan fluorescence of native PeLL in the acidic pH range exhibited a maximum emission at 343 ± 1 nm. Above pH 11, the maximum emission was at 349 ± 1 nm (Fig. 3C). These results imply the modification of the tryptophan environment with increased exposure to the solvent. The fluorescence intensity of bis-ANS gradually decreased with increasing pH values (Fig. 3D), also indicating the exposure of this probe (and consequently protein hydrophobic regions) to water.

PeLL showed strong activity against all the strains of phytopathogenic bacteria (Table 2) with MIC and MBC values of 0.185 and 0.74 µg/mL, respectively. PeLL also showed

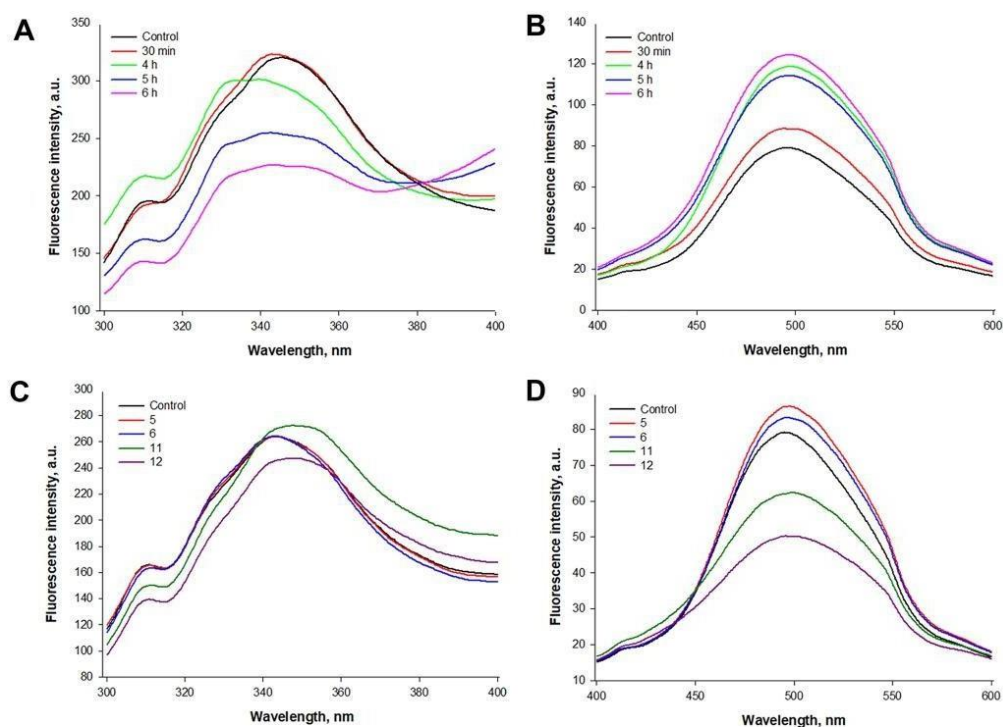


Fig. 3 Effects of heating and incubation at different pH values on the intrinsic fluorescence of *Portulaca elatior* leaf lectin (PeLL) or fluorescence of bis-ANS extrinsic probe incubated with the lectin. **A** Intrinsic fluorescence of tryptophan in PeLL heated at 100 °C for 30 min, 4 h, 5 h, or 6 h. **B** Changes in the fluorescence spectra of

bis-ANS when incubated with PeLL heated at 100 °C for 30 min, 4 h, 5 h, or 6 h. **C** Intrinsic fluorescence spectra of tryptophan in PeLL incubated at pH 5.0, 6.0, 11.0, or 12.0. **D** Changes in the fluorescence spectra of bis-ANS when in presence of PeLL incubated at pH 5.0, 6.0, 11.0, or 12.0

antifungal activity (Table 2) with a MIC of 1.48 µg/mL for *C. albicans*, *C. tropicalis*, and *C. krusei*, while MFC was not found for these species. For *C. parapsilosis*, the MIC was 0.74 µg/mL, and the MFC was 2.96 µg/mL.

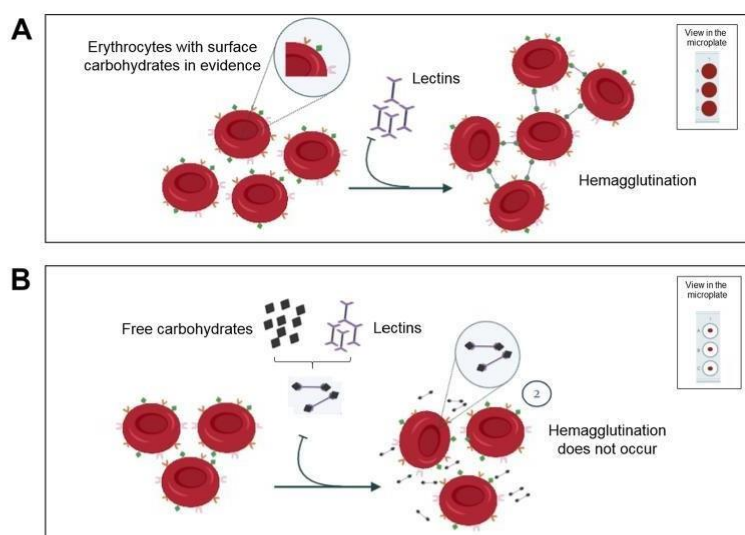
Evaluation of the hemolytic activity of PeLL demonstrated a maximum erythrocyte hemolysis rate of 14.3% at the highest tested concentration (300 µg/mL). Moreover, this hemolytic activity was 85.7% lower than that of the positive control (saponin). In the acute toxicity assay, no significant changes were observed in the weight variation of the animals treated orally with PeLL at 5 or 10 mg/kg. Moreover, the analysis of water and food consumption in mice during the 14 days of observation did not show statistically significant changes between the control and the test groups (Table 3). The hematological parameters of the animals treated with PeLL at doses of 5 and 10 mg/kg were not significantly different from those of the control animals (Table 4). Moreover, the biochemical parameters were not significantly different

between the groups, except for a decrease in the levels of albumin in mice treated with PeLL at 10 mg/kg (Table 5).

Discussion

Several lectins have already been isolated using stationary phase columns composed of chitin (a polymer of *N*-acetylglucosamine), for example, MuBL, MuHL, and MuLL, isolated from the bark, heartwood, and leaves of *Myracrodruon urundeuva*, respectively [38, 39]; WSMoL, isolated from *Moringa oleifera* seeds [40]; PFL, purified from phloem exudates of *Praecitrullus fistulosus* [41]; SteLL, obtained from leaves of *Schinus terebinthifolia* [42]; PgTeL, isolated from the sarcotesta of *Punica granatum* [43]; and PeRoL, isolated from the roots of *P. elatior* [27]. Interestingly, many of these chitin-binding lectins have been reported as antimicrobial agents that

Fig. 4 Schematic representation of the hemagglutinating activity and its inhibition by carbohydrates. **A** Lectins promote hemagglutination through the binding of their carbohydrate-binding sites to glycans found at the erythrocyte surface. **B** The inhibition assay is used to assure the involvement of lectins in the agglutination: the lectin is previously incubated with free carbohydrates before the addition of the erythrocytes; thus, the carbohydrate-binding site is occupied by the sugar and is not available to interact with erythrocyte glycans and promote the agglutination



can inhibit the growth and reduce the viability of bacterial and/or fungal cells [38, 42, 45–48]. PeLL is the second molecule to be isolated from *P. elatior*, which has a restricted distribution in the Brazilian Caatinga.

Lectins can recognize and bind to mono-, oligo-, or polysaccharides depending on the structure of their carbohydrate-binding sites. The carbohydrate-binding ability of a lectin can be identified through a hemagglutination assay performed using red blood cells; if lectins are present in the sample, they can bind to carbohydrates present on the surface of erythrocytes, promoting cell agglutination and hindering the precipitation of erythrocytes (Fig. 4A). To investigate the carbohydrate-binding activity and specificity of a lectin, it is necessary to perform a

hemagglutination inhibition assay by adding free carbohydrates or glycoconjugates to the medium. If there is a high affinity between the lectin and the free carbohydrates, the carbohydrate-binding sites will not be available to interact with the glycans present on the surface of erythrocytes, and hemagglutination will not be observed (Fig. 4B). Jacalin (isolated from *Artocarpus integrifolia*) and frutapin (lectin isolated from *Artocarpus incisa*) are plant lectins with an affinity for mannose and galactose, similar to PeLL [49, 50]. Several biological activities are attributed to these lectins, such as antiviral, antimicrobial, mitogenic, and antitumor effects [51, 52]. Mannose-binding lectins play a role in the endogenous plant defense by recognizing the high-mannose-type glycans of microorganisms or predators [53].

Cavada et al. [54] reported that some lectins depend on the presence of bivalent ions, such as Ca^{2+} and Mn^{2+} , to exert their carbohydrate-binding ability. These ions can act by modifying the lectin conformation, through stabilization of the amino acid residues in a correct position at the

Table 2 Antimicrobial activity of *Portulaca elatior* leaf lectin (PeLL)

Micorganism	MIC	MBC/MFC
<i>Pectobacterium carotovorum brasiliensis</i> (UNEB 23)	0.185	0.740
<i>Pectobacterium carotovorum carotovorum</i> (UNEB 2)	0.185	0.740
<i>Pectobacterium</i> sp. (UNEB 25)	0.185	0.740
<i>Pectobacterium</i> sp. (UNEB 28)	0.185	0.740
<i>Candida albicans</i> (URM 5901)	1.480	ND
<i>Candida krusei</i> (URM 6351)	1.480	ND
<i>Candida tropicalis</i> (URM 6551)	1.480	ND
<i>Candida parapsilosis</i> (URM 6345)	0.740	2.960

Minimal inhibitory concentration (MIC) and minimal bactericidal/fungicidal concentration (MBC/MFC) were expressed in microgram per milliliter of protein; ND, not detected

Table 3 Water and food consumption of mice from control and treated per os with *Portulaca elatior* leaf lectin (PeLL)

Parameter	Control	PeLL	
		10 mg/kg	5 mg/kg
Water consumption (mL)	13.38 ± 1.4	14.34 ± 4.75	15.29 ± 1.09
Food consumption (g)	8.23 ± 1.25	9.09 ± 5.67	8.72 ± 3.06

Values are expressed as the mean ± standard deviation (SD). There were no significant differences ($p > 0.05$) between the control and PeLL-treated groups

Table 4 Hematological parameters of mice from control and treated groups per os with *Portulacacaelator* leaf lectin (PeLL)

Parameters	Control	PeLL	
		10 mg/kg	5 mg/kg
Erythrocytes ($10^6/\text{mm}^3$)	6.80±0.76	4.79±0.01	5.78±0.37
Hematocrit (%)	45.95±0.36	45.93±2.19	45.67±2.68
Hemoglobin (%)	15.44±1.77	15.88±0.12	15.86±0.16
MCV (%)	44.03±2.0	43.92±0.18	42.78±3.0
MCH (%)	17.64±0.28	17.83±0.09	17.66±0.35
MCHC (%)	35.73±1.24	35.33±0.61	36.02±1.32
Leukocytes ($10^3/\text{mm}^3$)	7.07±0.19	6.47±0.10	7.08±0.19

Values are expressed as the mean±standard deviation (SD). *MCV*, mean corpuscular volume; *MCH*, mean corpuscular hemoglobin; *MCHC*, mean corpuscular hemoglobin concentration; there were no significant differences ($p>0.05$) between the control and PeLL-treated groups

carbohydrate-binding domains, to interact better with the carbohydrate ligands. For example, the HA of the lectin from *Alpinia purpurata* inflorescences was stimulated in the presence of Ca^{2+} ions [55]. Conversely, the presence of these ions may also induce conformational changes that negatively affect the carbohydrate-binding ability [56, 57], which was observed in the case of PeLL.

Each protein has optimal ranges of pH and temperature at which they perform their biological functions, as well as ranges at which they are not functional. Thus, studying the influence of these physicochemical factors is important to determine the ideal conditions for maintaining the integrity of the native structure of lectins [27]. PeLL was more thermostable than other lectins such as GaBL (isolated from the bark of *Genipa americana*), which showed a decrease

in agglutinating ability when heated at 70 °C, and ATL, extracted from *Apios americana*, which lost its HA when heated to temperatures above 60 °C [58, 59]. Other thermostable lectins have been reported, such as cMoL, purified from *M. oleifera* seeds, which maintained the HA after being heated to 100 °C for 30 min [60]. The same was observed for CasuL, isolated from *Calliandra surinamensis* leaves [25], and PeRoL, isolated from *P. elatior* roots [27]. The increase in temperature triggers vibrations that directly influence the non-covalent bonds of the protein, which may disturb or approximate the atoms, altering the native structure. The thermostability of a protein depends on the interactions such as hydrogen bonds that maintain the ideal conformation required for its biological activity (such as the carbohydrate-binding ability) as well as on the types of super-secondary and tertiary organizations within the protein [61].

Similar to PeLL, the lectin PeRoL demonstrated higher HA at acidic pH [27]. The change in the concentration of H^+ ions can lead to the protonation or deprotonation of ionizable groups from charged polar amino acid side chains, which can also alter the conformation and biological activities of proteins [59]. Lectins exhibit varying behavior, which correlate with their singular structures and amino acid compositions. For example, ATL showed a stable HA at the pH range 5.0–13.0, lectins extracted from *Arisaema tortuosum* showed optimum HA at pH 2.0, while lectin extracted from *Pisum sativum* presented a stable HA at the pH range 6.0–8.0 [58, 62, 63].

In proteins, the amino acid tryptophan is an intrinsic fluorophore that can be used as a probe for elucidating structural alterations since the fluorescence emission of tryptophan is affected by the local environment. Thus, changes in the emission spectra of tryptophan often occur in response to conformational transitions, subunit association, ligand binding, or denaturation [64, 65]. Moreover, bis-ANS is a fluorescent probe that binds to hydrophobic sites of proteins and is used to detect conformational changes in proteins [66]. The results of the fluorometric analysis suggest that heating of PeLL leads to structural rearrangement of lectin with the formation of more hydrophobic clusters. Thus, the longer heating time may have caused flexibilization of the lectin structure with an increase in the number of hydrophobic pockets, followed by displacement of tryptophan residues to the hydrophobic environment, but without alterations enough to disassemble the carbohydrate-binding domains. Concerning assays at different pH values, the data from the evaluation of both intrinsic and extrinsic fluorescence indicate that PeLL probably becomes partially unfolded with hydrophobic sites exposed to the solvent at basic pH, which explains the absence or significant reduction of HA. PeLL showed minimal, but still detectable, HA at pH 12.0, despite being unable to agglutinate erythrocytes when incubated at pH 7.0 to 11.0. In fact, the intrinsic and extrinsic

Table 5 Biochemical parameters of mice from control and treated per os with *Portulaca elatior* leaf lectin (PeLL)

Parameters	Control	PeLL	
		10 mg/kg	5 mg/kg
Albumin (g/dL)	68.34±2.18	65.78±1.66*	67.4±2.13
ALT (U/L)	95.75±1.21	94.38±1.19	94.88±1.99
AST (U/L)	25.28±0.63	26.88±0.15	24.78±1.52
AP (IU/L)	43.86±0.65	45.02±0.23	45.63±1.41
GGT (U/L)	8.16±0.80	7.44±0.14	6.44±0.12
Total protein (g/dL)	4.96±0.04	4.23±0.15	4.18±0.08
BUN (mg/dL)	4.0±0.13	3.2±0.06	3.16±0.14
Creatinine (mg/dL)	0.53±0.02	0.56±0.01	0.54±0.08
Bilirubin	10.04±0.9	11.0±0.025	10.36±0.03

Values are expressed as the mean±standard deviation (SD). (*) Significant difference ($p<0.01$) compared to the control. *AP*, alkaline phosphatase; *ALT*, alanine aminotransferase; *AST*, aspartate aminotransferase; *BUN*, blood urea nitrogen; *GGT*, gamma-glutamyl transferase

fluorescence curves obtained for PeLL at pH 11.0 and 12.0 show differences in the fluorescence intensity, which indicates that the conformations are not the same at these pH values. This may explain the fact that PeLL was able to agglutinate erythrocytes at pH 12.0, albeit weakly, compared to lower pH values in the alkaline range.

The antibacterial effect of PeLL on *Pectobacterium* strains can be triggered by the interaction of lectin with carbohydrates on the pathogen surface. This hypothesis is supported by a recent study that reported the presence of D-galactose and D-mannose (carbohydrates for which PeLL showed strong affinity) in the phenotypic profile of *Pectobacterium* subspecies, including *P. carotovorum carotovorum* and *Pectobacterium carotovorum brasiliensis* [67].

Noteworthy, compared to other antimicrobial lectins, low concentrations of PeLL inhibited the growth and killed all *Pectobacterium* strains tested. For example, the antimicrobial activity of *Phthirusa pyrifolia* leaf lectin (PpyLL) demonstrated a MIC of 500 and 200 µg/mL against *Enterococcus faecalis* and *Staphylococcus epidermidis*, respectively [68]. The *Myracrodruon urundeuva* heartwood lectin showed a MIC of 4.68 and 9.37 µg/mL for *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae*, respectively, with MBC of 9.37 µg/mL [38]. PeRoL showed antimicrobial activity with a MIC of 8.12 µg/mL for *Enterococcus faecalis*, 4.06 µg/mL to *Pseudomonas aeruginosa*, and 32.5 µg/mL to *Staphylococcus aureus* [27]. The antimicrobial activities of PeLL and other lectins against *Pectobacterium* species could not be compared since no data are available in the literature regarding the effects of lectins or other isolated molecules from plants on these bacteria.

PeLL demonstrated greater anti-*Candida* efficacy than PeRoL, which had a MIC approximately 11 times higher (16 µg/mL) against all *Candida* species. Lectins such as ApuL, extracted from the inflorescence of *Alpinia purpurata* [69], and PgTeL, extracted from the sarcostesta of *Punica granatum* [43], also demonstrated anti-*Candida* activity with MIC values higher than PeLL.

Paiva et al. [70] reported that the antibacterial activity of lectins against Gram-positive and Gram-negative bacteria is achieved through the interaction of these molecules with components of the cell walls and membranes, including teichoic and teichuronic acids, peptidoglycans, lipopolysaccharides, and muramic acid. According to Coelho et al. [20], the binding of lectin to bacterial wall compounds can inhibit their development by interfering with cell homeostasis, disintegrating the cell wall, and causing the death of the pathogen by events such as cell leakage.

One of the main constituents of fungal cell walls is chitin, a polymer of *N*-acetylglucosamine. Thus, many lectins act by binding to this polymer and inhibiting fungal cell growth. In addition, the inhibition is attributed to mechanisms such as the formation of reactive oxygen species in

the intracellular region, lipid peroxidation, increased membrane permeability, and energetic collapse [43, 71]. Lectins with anti-*Candida* activity can also trigger morphological changes, reduction of cytoplasmic content, induction of hyperpolarization or depolarization of the mitochondrial membrane, and induction of apoptosis and necrosis [25, 43].

Antimicrobials used in the control of human pathogens and phytopathogens can have toxic effects on humans and non-target organisms, such as genotoxicity [72], neurotoxicity [73], hepatotoxicity [74], and reproductive toxicity [75], among other harmful effects. Therefore, it is necessary to evaluate the in vitro and in vivo toxicity of new molecules with antimicrobial potential. The results of the hemolytic and acute toxicity assays revealed low toxicity of the lectin. Only a decrease in serum albumin levels was observed in the PeLL-treated group, which could be linked to malabsorption, inadequate nutrient intake, or intestinal changes. However, the weight of the animals and consumption of nutrients did not change significantly. In addition, creatinine levels did not change in the animals treated with PeLL when compared to animals in the control group. This metabolite residue (creatinine) is associated with protein intake and is directly associated with muscle mass [76]. Therefore, there were no indications of muscle loss or protein malabsorption.

The absence of severe toxicity and lethality caused by PeLL has drawn attention because studies have reported the toxicity of *P. elatior* in nature in goats [77] and cattle, where two out of five cows died within approximately 18 h after consuming *P. elatior* [78]. The animals poisoned by *P. elatior* had symptoms such as dehydration and intestinal irritation [78]. However, in the present study, the mice remained nourished during the tests using PeLL. Thus, we hypothesized that PeLL was separated from toxic compounds present in the plant through the purification process and was not associated with the toxicity of this plant species. Alternatively, if this lectin participates in the toxicity process triggered by *P. elatior*, its use is safe at doses up to 10 mg/kg.

Conclusion

A new mannose/galactose-binding and thermostable lectin (PeLL) was purified from the leaves of *P. elatior*, which showed antimicrobial activity against phytopathogenic bacteria of the *Pectobacterium* genus and human pathogenic fungi of the *Candida* genus. In addition, PeLL showed no in vitro hemolytic activity or in vivo acute toxicity to mice at the doses evaluated, without relevant alterations in behavioral, hematological, biochemical, and histopathological parameters. This stimulates the future development of products and strategies for the use of lectins as antimicrobial agents.

Funding The authors express their gratitude to the *Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico* (CNPq) for financial support (407192/2018–2) and investigator research grants (PMGP and THN). We are also grateful to the *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior* (CAPES; Finance Code 001) and the *Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco* (FACEPE: APQ 0108–2.08/14) for financial support. SPS would like to thank CAPES for graduate scholarship.

Data Availability All data generated or analyzed during this study are included in this published article.

Declarations

Conflict of Interest The authors declare no competing interests.

References

- Carneiro LM, Xavier FB (2017) Infecção vaginal causada por *Candida* sp: revisão da literatura. *Rev Uningá* 7:23–32
- Oladele R, Ogunsola F, Akanmu A et al (2020) Opportunistic fungal infections in persons living with advanced HIV disease in Lagos, Nigeria; a 12-year retrospective study. *Afr Health Sci* 20:1573–1581. <https://doi.org/10.4314/ahs.v20i4.9>
- Vasconcelos AA, Menezes EA, Cunha FA (2011) Chromogenic medium for direct susceptibility testing of *Candida* spp. isolated from urine. *Mycopathologia* 172:125–130. <https://doi.org/10.1007/s11046-011-9407-9>
- Rocha FMG, Rocha CHL, Mendonça AMS et al (2018) Virulência de isolados clínicos de *Candida tropicalis*. *Rev Invest Biomédica* 9:118–128. <https://doi.org/10.24863/rib.v9i2.146>
- Yaneja N, Kaur H (2016) Insights into newer antimicrobial agents against gram-negative bacteria. *Microbiol Insights* 9:MBI.S29459. <https://doi.org/10.4137/MBI.S29459>
- Shapiro RS, Robbins N, Cowen LE (2011) Regulatory circuitry governing fungal development, drug resistance, and disease. *Microbiol Mol Biol Rev* 75:213–267. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00045-10>
- Berto C, Wirth F, Barth N, Hermes DM (2018) Bases da resistência antifúngica: uma revisão comentada. *Rev Uningá* 3:52–71
- Nóbrega RLB, Guzha AC, Lamparter G et al (2018) Impacts of land-use and land-cover change on stream hydrochemistry in the Cerrado and Amazon biomes. *Sci Total Environ* 635:259–274. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.356>
- Júnior MF, Soares AG (2014) Orientações quanto ao manuseio pré e pós-colheita de frutas e hortaliças visando à redução de suas perdas. Comunicado Técnico 205, Embrapa
- Fan X, Ye T, Li Q et al (2020) Potential of a quorum quenching bacteria isolate *Ochrobactrum intermedium* D-2 against soft rot pathogen *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*. *Front Microbiol* 11:898. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00898>
- Waleron M, Misztak A, Waleron M et al (2018) Transfer of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* strains isolated from potatoes grown at high altitudes to *Pectobacterium peruvienne* sp. nov. *Syst Appl Microbiol* 41:85–93. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2017.11.005>
- Melo MRF, Souza EB, Pinto KMS et al (2017) Redução da podridão mole em couve-chinesa mediada por indutores de resistência. *Rev CIENTEC* 9:15–24
- Filho RCC, Melo SCM (2008) *Pectobacterium carotovorum*: taxonomia, identificação, sintomatologia, epidemiologia e controle. Brasília, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
- Ferrarezi JH, Santos JA, Sette LD et al (2019) Anti-*Xanthomonas* activity of Antarctic fungi crude extracts. *African J Biotechnol* 18:713–718. <https://doi.org/10.5897/AJB2019.16886>
- Kusumi TA, Lemes VRR, Nakano VE, Rocha SB, Kimura IDA, Silva ICD (2011) Avaliação de hexaclorociclohexano em águas nas circunvizinhanças de um passivo ambiental. *Rev Inst Adolfo Lutz* 3:408–411
- Mendez A, Ng CA, Torres JPM et al (2016) Modeling the dynamics of DDT in a remote tropical floodplain: indications of post-ban use? *Environ Sci Pollut Res* 23:10317–10334. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-5641-x>
- Stenström JR, Kreuger J, Goedkoop W (2021) Pesticide mixture toxicity to algae in agricultural streams – field observations and laboratory studies with in situ samples and reconstituted water. *Ecotoxicol Environ Saf* 215:112153. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112153>
- Chaudhary S, Kanwar RK, Sehgal A et al (2017) Progress on *Azadirachta indica* based biopesticides in replacing synthetic toxic pesticides. *Front Plant Sci* 8:610. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00610>
- Yu T, Jiang G, Gao R et al (2020) Circumventing antimicrobial-resistance and preventing its development in novel, bacterial infection-control strategies. *Expert Opin Drug Deliv* 17:1151–1164. <https://doi.org/10.1080/17425247.2020.1779697>
- Coelho LCBB, Silva PMS, Oliveira WF et al (2018) Lectins as antimicrobial agents. *J Appl Microbiol* 125:1238–1252. <https://doi.org/10.1111/jam.14055>
- Almeida WA, Silva TN, Nova ICV et al (2020) The roles of bacterial membrane glycans and their importance as targets of antimicrobial lectins. In: Toft AC (ed) *Frontiers in Bacteriology Research*. Nova Science Publishers Inc., New York, pp 197–218
- Coelho LCBB, Silva PMS, Lima VLM et al (2017) Lectins, interconnecting proteins with biotechnological/pharmacological and therapeutic applications. *Evid Based Complement Alternat Med* 2017:1594074. <https://doi.org/10.1155/2017/1594074>
- Patriota LLS, Brito JS, Ramos DBM et al (2019) Plant-derived lectins: a review of their status as alternatives to anticancer chemotherapy. In: Watanabe HS (ed) *Horizons in Cancer Research*, vol 73. Nova Science Publishers Inc., New York, pp 171–206
- Silva LLS, Silva SCC, Oliveira APS et al (2021) Effects of a solid formulation containing lectin-rich fraction of *Moringa oleifera* seeds on egg hatching and development of *Aedes aegypti* larvae. *Acta Trop* 214:105789
- Procópio TF, Patriota LLS, Moura MC et al (2017) CasuL: a new lectin isolated from *Calliandra surinamensis* leaf pinnulae with cytotoxicity to cancer cells, antimicrobial activity and antibiofilm effect. *Int J Biol Macromol* 98:419–429. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.02.019>
- Borsai O, Al HM, Boscaiu M et al (2018) The genus *Portulaca* as a suitable model to study the mechanisms of plant tolerance to drought and salinity. *EuroBiotech J* 2:104–113. <https://doi.org/10.2478/ebtj-2018-0014>
- Silva JDF, Silva SP, Silva PM et al (2019) *Portulaca elatior* root contains a trehalose-binding lectin with antibacterial and antifungal activities. *Int J Biol Macromol* 126:291–297. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.188>
- Paiva PMG, Coelho LCBB (1992) Purification and partial characterization of two lectin isoforms from *Cratylia mollis* Mart. (camaratu bean). *Appl Biochem Biotechnol* 36:113–118. <https://doi.org/10.1007/BF02929691>
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ (1951) Protein measurement with the Folin-Phenol reagent. *J Biol Chem* 193:265–276. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)52451-6)
- Green AA, Hughes WL (1955) Protein fractionation on the basis of solubility in aqueous solutions of salts and organic solvents. In: Colowick S, Kaplan N (eds) *Methods in Enzymology*. Academic Press, New York, pp 67–90

31. Davis BJ (1964) Disc electrophoresis. II. Method and application to human serum proteins. *Ann NY Acad Sci* 121:404–427. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1964.tb14213.x>
32. Reisfeld RA, Lewis UJ, Williams DE (1962) Disk electrophoresis of basic proteins and peptides on polyacrylamide gels. *Nature* 195:281–283. <https://doi.org/10.1038/195281a0>
33. Laemmli UK (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227:680–685. <https://doi.org/10.1038/227680a0>
34. Amsterdam D (1996) Susceptibility testing of antimicrobials in liquid media. In: Lorian V (ed) *Antibiotics in Laboratory Medicine*. Williams and Wilkins, Baltimore, pp 52–111
35. Braga AA, Lacerda RR, Medeiros GKVV et al (2015) Antibacterial and hemolytic activity of a new lectin purified from the seeds of *Sterculia foetida* L. *Appl Biochem Biotechnol* 175:1689–1699. <https://doi.org/10.1007/s12010-014-1390-4>
36. Organization for Economic Cooperation and Development (2001) OECD guideline for testing of chemicals. Guideline 423: Acute Oral Toxicity Acute Toxic Class Method. Organization for Economic Cooperation and Development, Paris
37. Conybeare G, Leslie GB, Angles K, Barrett RJ, Luke JSH, Gask DR (1988) An improved simple technique for the collection of blood samples from rats and mice. *Lab Anim* 22:177–182. <https://doi.org/10.1258/002367788780864529>
38. Sá RA, Gomes FS, Napoleão TH et al (2009) Antibacterial and antifungal activities of *Myracrodruon urundeuva* heartwood. *Wood Sci Technol* 43:85–95. <https://doi.org/10.1007/s00226-008-0220-7>
39. Napoleão TH, Gomes FS, Lima TA et al (2011) Termiticidal activity of lectins from *Myracrodruon urundeuva* against *Nasutitermes corniger* and its mechanisms. *Int Biodeter Biodegr* 65:52–59. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2010.05.015>
40. Coelho JS, Santos ND, Napoleão TH et al (2009) Effect of *Moringa oleifera* lectin on development and mortality of *Aedes aegypti* larvae. *Chemosphere* 77:934–938. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.08.022>
41. Madhu CS, Balaji KS, Shankar J, Sharada AC (2019) Antitumor effects of chitin specific lectin from *Pracitruillus fistulosus* by targeting angiogenesis and apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun* 518:381–387. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.08.067>
42. Gomes FS, Procópio TF, Napoleão TH et al (2013) Antimicrobial lectin from *Schinus terebinthifolius* leaf. *J Appl Microbiol* 114:672–679. <https://doi.org/10.1111/jam.12086>
43. Silva PM, Moura MC, Gomes FS et al. (2018) PgTeL, the lectin found in *Punica granatum* juice, is an antifungal agent against *Candida albicans* and *Candida krusei*. *Int J Biol Macromol* 108, 391–400. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.12.039>
44. Moura MC, Napoleão TH, Coriolano MC et al (2015) Water-soluble *Moringa oleifera* lectin interferes with growth, survival and cell permeability of corrosive and pathogenic bacteria. *J Appl Microbiol* 119:666–676. <https://doi.org/10.1111/jam.12882>
45. Moura MC, Trentin DS, Napoleão TH et al (2017) Multi-effect of the water-soluble *Moringa oleifera* lectin against *Serratia marcescens* and *Bacillus* sp.: antibacterial, antibiofilm and anti-adhesive properties. *J Appl Microbiol* 123:861–874. <https://doi.org/10.1111/jam.13556>
46. Coriolano MC, Brito JS, Ferreira GRS et al (2020) Antibacterial lectin from *Moringa oleifera* seeds (WSMoL) has differential action on growth, membrane permeability and protease secretory ability of Gram-positive and Gram-negative pathogens. *South African J Bot* 129:198–205. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.06.014>
47. Santos LMM, Silva PM, Moura MC et al (2021) Anti-*Candida* activity of the water-soluble lectin from *Moringa oleifera* seeds (WSMoL). *J Med Mycol* 31:101074. <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2020.101074>
48. Silva PM, Baldry M, Peng P et al (2019) *Punica granatum* sarcotesta lectin (PgTeL) impairs growth, structure, viability, aggregation, and biofilm formation ability of *Staphylococcus aureus* clinical isolates. *Int J Biol Macromol* 123:600–608. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.11.030>
49. Moreira RDA, Perrone JC (1977) Purification and partial characterization of a lectin from *Phaseolus vulgaris*. *Plant Physiol* 59:783–787. <https://doi.org/10.1104/pp.59.5.783>
50. Sousa FD, Silva BB, Furtado GP et al (2017) Frutapin, a lectin from *Artocarpus incisa* (breadfruit): cloning, expression and molecular insights. *Biosci Rep* 37:BSR20170969. <https://doi.org/10.1042/BSR20170969>
51. Jacques AV, Rieger DK, Maestri M et al (2013) Lectin from *Canavalia brasiliensis* (ConBr) protects hippocampal slices against glutamate neurotoxicity in a manner dependent of PI3K/Akt pathway. *Neurochem Int* 62:836–842. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2013.02.020>
52. Silva MCC, de Paula CAA, Ferreira JG et al (2014) *Bauhinia forficata* lectin (BfL) induces cell death and inhibits integrin-mediated adhesion on MCF7 human breast cancer cells. *Biochim Biophys Acta - Gen Subj* 1840:2262–2271. <https://doi.org/10.1016/j.bba-gen.2014.03.009>
53. Sudmoon R, Sattayasai N, Bunyatrachata W et al (2008) Thermostable mannose-binding lectin from *Dendrobium findleyanum* with activities dependent on sulfhydryl content. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 40:811–818. <https://doi.org/10.1093/abbs/40.9.811>
54. Cavada BS, Pinto-Junior VR, Osterne VJS et al (2020) A Diocleinae type II lectin from *Dioclea lasiophylla* Mart. Ex Benth seeds specific to α -lactose/GalNAc. *Process Biochem* 93:104–114. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2020.03.026>
55. Brito JS, Ferreira GRS, Klimczak E et al (2017) Lectin from inflorescences of ornamental crop *Alpinia purpurata* acts on immune cells to promote Th1 and Th17 responses, nitric oxide release, and lymphocyte activation. *Biomed Pharmacother* 94:865–872. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.08.026>
56. Silva HC, Bari AU, Pereira FN et al (2011) Purification and partial characterization of a new pro-inflammatory lectin from *Bauhinia bauhinoides* Mart (Caesalpinoideae) Seeds. *Protein Pept Lett* 18:396–402. <https://doi.org/10.2174/092986611794653987>
57. Silva HC, Pinto LS, Teixeira EH et al (2014) BUL: a novel lectin from *Bauhinia unguiculata* L. seeds with fungistatic and antiproliferative activities. *Process Biochem* 49:203–209. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2013.10.020>
58. Kenmochi E, Kabir S, Ogawa T et al (2015) Isolation and biochemical characterization of *Apios Tuber* Lectin. *Molecules* 20:987–1002. <https://doi.org/10.3390/molecules20010987>
59. Costa RB, Campana PT, Chambergro FS et al (2018) Purification and characterization of a lectin with refolding ability from *Genipa americana* bark. *Int J Biol Macromol* 119:517–523. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.07.178>
60. Santos AFS, Luz LA, Argolo ACC et al (2009) Isolation of a seed coagulant *Moringa oleifera* lectin. *Process Biochem* 44:504–508. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2009.01.002>
61. Bose PP, Bhattacharjee S, Singha S et al (2016) A glucose/mannose binding lectin from litchi (*Litchi chinensis*) seeds: biochemical and biophysical characterizations. *Biochem Biophys Reports* 6:242–252. <https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2016.05.001>
62. Dhuna V, Bains JS, Kamboj SS et al (2005) Purification and characterization of a lectin from *Arisaema tortuosum* Schott having in-vitro anticancer activity against human cancer cell lines. *BMB Rep* 38:526–532. <https://doi.org/10.5483/BMBRep.2005.38.5.526>
63. Sitohy M, Doheim M, Badr H (2007) Isolation and characterization of a lectin with antifungal activity from Egyptian *Pisum sativum* seeds. *Food Chem* 104:971–979. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.01.026>
64. Lakowicz JR (2006) *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. Springer-Verlag, US, New York
65. Khrustalev VV, Poboinev VV, Stojarov AN, Khrustaleva TA (2019) Microenvironment of tryptophan residues in proteins of

- four structural classes: applications for fluorescence and circular dichroism spectroscopy. *Eur Biophys J* 48:523–537. <https://doi.org/10.1007/s00249-019-01377-0>
66. Rosen CG, Weber G (1969) Dimer formation from 1-anilino-8-naphthalenesulfonate catalyzed by bovine serum albumin. Fluorescent molecule with exceptional binding properties. *Biochemistry* 8:3915–3920. <https://doi.org/10.1021/bi00838a006>
 67. Dees MW, Lysøe E, Rossmann S et al (2017) *Pectobacterium polaris* sp. nov., isolated from potato (*Solanum tuberosum*). *Int J Syst Evol Microbiol* 67:5222–5229. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.002448>
 68. Costa RMPB, Vaz AFM, Oliva MLV et al (2010) A new mistletoe *Phthirusa pyrifolia* leaf lectin with antimicrobial properties. *Process Biochem* 45:526–533. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2009.11.013>
 69. Ferreira GRS, Brito JS, Procópio TF et al (2018) Antimicrobial potential of *Alpinia purpurata* lectin (ApuL): growth inhibitory action, synergistic effects in combination with antibiotics, and anti-biofilm activity. *Microb Pathog* 124:152–162. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.08.027>
 70. Paiva PMG, Gomes FS, Napoleão TH et al (2010) Antimicrobial activity of secondary metabolites and lectins from plants. In: Méndez-Villas A (ed) *Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology*, Formatex Research Center, Badajoz, pp 396–406
 71. Neto JXT, Pereira ML, Oliveira JTA et al (2017) A chitin-binding protein purified from *Moringa oleifera* seeds presents anticandidal activity by increasing cell membrane permeability and reactive oxygen species production *Front Microbiol* 8 <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00980>
 72. Candeiro GTM, Moura-Netto C, D'Almeida-Couto RS et al (2016) Cytotoxicity, genotoxicity and antibacterial effectiveness of a bioceramic endodontic sealer. *Int Endod J* 49:858–864. <https://doi.org/10.1111/iej.12523>
 73. Su B, Guan Q, Yu S (2018) The neurotoxicity of nanoparticles: a bibliometric analysis. *Toxicol Ind Health* 34:922–929. <https://doi.org/10.1177/07482337188049733>
 74. Haggard DE, Noyes PD, Waters KM, Tanguay RL (2016) Phenotypically anchored transcriptome profiling of developmental exposure to the antimicrobial agent, triclosan, reveals hepatotoxicity in embryonic zebrafish. *Toxicol Appl Pharmacol* 308:32–45. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2016.08.013>
 75. Wang X, Ma Y, Liu J et al (2017) Reproductive toxicity of β -diketone antibiotic mixtures to zebrafish (*Danio rerio*). *Ecotoxicol Environ Saf* 141:160–170. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.02.042>
 76. Yanishi M, Kinoshita H, Tsukaguchi H et al (2019) The creatinine/cystatin C ratio provides effective evaluation of muscle mass in kidney transplant recipients. *Int Urol Nephrol* 51:79–83. <https://doi.org/10.1007/s11255-018-2015-6>
 77. Galiza GJN, Pimentel LA, Oliveira DM et al (2011) Intoxicação por *Portulaca elatior* (Portulacaceae) em caprinos. *Pesq Veter Bras* 31:465–470. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2011000600001>
 78. Neto TSO, Correa FR, Barbosa FMS et al (2017) Intoxicação por *Portulaca elatior* (Portulacaceae) em bovinos. *Pesq Veter Bras* 37:785–789. <https://doi.org/10.1590/s0100-736x2017000800001>

Publisher's Note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

4. CONCLUSÕES

Uma nova lectina (PeLL) termoestável com afinidade à manose/galactose foi purificada das folhas de *P. elatior* mostrando-se promissora devido sua atividade antimicrobiana frente à bactérias patogênicas do gênero *Pectobacterium* e fungos do gênero *Candida*. Ainda, PeLL não apresentou atividade hemolítica *in vitro* ou toxicidade água oral significativa nos parâmetros avaliados sem alterações hematológicas, bioquímicas ou histológicas relevantes. Além disso, os extratos salinos de caules e folhas de *P. elatior* demonstraram atividade antioxidante, em detrimento apenas o extrato de folhas demonstrou atividade fotoprotetora. As atividades biológicas mais expressivas do extrato de folhas podem estar correlacionada com a maior concentração de compostos fenólicos, flavonoides e proteínas no mesmo. Por fim o extrato de folhas não apresentou toxicidade aguda oral ou dérmica relevante frente aos camundongos tratados com 1000 mg/kg demonstrando apenas uma ligeira toxicidade em animais tratados com 2000 mg/kg.

REFERÊNCIAS

ABAY, Asena *et al.* Glutaraldehyde—a subtle tool in the investigation of healthy and pathologic red blood cells. **Frontiers in physiology**, v. 10, p. 514, 2019.

ABUBAKAR, Abdullahi; HAQUE, Mainul. Preparation of medicinal plants: basic extraction and fractionation procedures for experimental purposes. **Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences**, v. 12, n. 1, p. 1, 2020.

AGUIAR, Lethícia Maria de Souza *et al.* **Antioxidant, antimicrobial and immunostimulant properties of saline extract from *Caesalpinia pulcherrima* (L.) Swartz (Fabaceae) leaves.** 2019.

ANDRADE-OCHOA, Sergio *et al.* Quantitative structure-activity relationship of molecules constituent of different essential oils with antimycobacterial activity against *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium bovis*. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 15, n. 1, p. 1-11, 2015.

ARORA, Sushrut; SAXENA, Vikas *et al.* Affinity chromatography: A versatile technique for antibody purification. **Methods**, v. 116, p. 84-94, 2017.

ARSANIOS, Daniel Martin *et al.* Criptococosis y linfocitopenia T CD4 idiopática: Reporte de un caso. **Infectio**, v. 25, n. 1, p. 49-54, 2020.

ÁVILA, Luma Aquino; PRIMO, Fabian Teixeira. A utilização de antioxidantes orais na fotoproteção: revisão sistemática. **VITTALLE-Revista de Ciências da Saúde**, v. 33, n. 2, p. 97-108, 2021.

AVRAMEAS, Stratis; TAUDOU, Bernadette; CHUILON, Sylvaine. Glutaraldehyde, cyanuric chloride and tetraazotie O-dianisidine as coupling reagents in the passive hemagglutination test. **Immunochemistry**, v. 6, n. 1, p. 67-76, 1969.

AZARKAN, Mohamed. *et al.* Biochemical and structural characterization of a mannose binding jacalin-related lectin with two-sugar binding sites from pineapple (*Ananas comosus*) stem. **Scientific Reports**, 8, n. 1, 11508, 2018.

BALOGH, Tatiana Santana *et al.* Ultraviolet radiation protection: current available resources in photoprotection. **Anais brasileiros de Dermatologia**, v. 86, n. 4, p. 732-742, 2011.

BARNARD, Isla Rose Mary; EADIE, Ewan; WOOD, Kenneth. Further evidence that far-UVC for disinfection is unlikely to cause erythema or pre-mutagenic DNA

lesions in skin. **Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine**, v. 36, n. 6, p. 476-477, 2020.

BARROS, Barbara *et al.* Saline extract from *Malpighia emarginata* DC leaves showed higher polyphenol presence, antioxidant and antifungal activity and promoted cell proliferation in mice splenocytes. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 91, 2019.

BATISTA, C. M. *et al.* The photoprotective and anti-inflammatory activity of red propolis extract in rats. **Journal of Photochemistry and Photobiology: Biology**, v. 180, p. 198-207, 2018.

BEHEREGARAY, Wanessa Kruger *et al.* Células-tronco mesenquimais aplicadas nas fases inflamatória e proliferativa da cicatrização de feridas cutâneas. **Arquivo brasileiro de medicina veterinária e zootecnia**, v. 69, n. 6, p. 1591-1600, 2017.

BELÉM, Gladysne Mendes *et al.* Cerrado plants with Antimicrobial Activity: a systematic literature review. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 10, n. 16, p. e07101622753, 2021

BERNARDI, Silvia *et al.* Ultrasound: A suitable technology to improve the extraction and techno-functional properties of vegetable food proteins. **Plant Foods for Human Nutrition**, p. 1-11, 2021.

BHUYAN, Deep Jyoti; BASU, Amrita. Phenolic compounds potential health benefits and toxicity. In: Utilisation of bioactive compounds from agricultural and food waste. **CRC Press**, 2017. p. 27-59.

BOAKYE, Yaw. *et al.* Assessment of wound-healing properties of medicinal plants: The case of *Phyllanthus muellerianus*. **Frontiers in pharmacology**, v. 9, p. 945, 2018.

BONNER, Philip; BONNER, Philip LR. **Protein purification**. Taylor & Francis, 2007.

BRAGA, Adriano Cesar Calandrini *et al.* Atividade antioxidante e quantificação de compostos bioativos dos frutos de abricó (*Mammea americana*). **Alimentos e nutrição**, v. 21, n. 1, p. 3136-3136, 2010.

BRANDÃO, Laise Diana dos Santos. **Prevalência e susceptibilidade antifúngica de *Candida spp* implicadas na candidíase vulvovaginal em gestantes**. 2017. Dissertação de Mestrado. Brasil.

BRASIL. Resolução RDC nº 30, de 1 de julho de 2012. Disponível em: Acessado em: 16 de Outubro de 2021

BROOKES, Graham. Twenty-one years of using insect resistant (GM) maize in Spain and Portugal: farm-level economic and environmental contributions. **GM crops & food**, v. 10, n. 2, p. 90-101, 2019.

BURGESS, Richard; DEUTSCHER, Murray (Ed.). Guide to protein purification. **Academic Press**, 2009.

CARGNIN, Marcia Casaril dos Santos; ECHER, Isabel Cristina; SILVA, Djulia Rosa da. Fumicultura: uso de equipamento de proteção individual e intoxicação por agrotóxico. **Revista de Pesquisa: Cuidado é Fundamental Online**. Rio de Janeiro. Vol. 9, n. 2 (abr./jun. 2017), p. 466-472, 2017.

CARLINI, Célia; GROSSI-DE-SÁ, Maria Fátima. Plant toxic proteins with insecticidal properties. A review on their potentialities as bioinsecticides. **Toxicon**, v. 40, n. 11, p. 1515-1539, 2002.

CARVALHO, Filho R. C.; MELLO, S. C. M. *Pectobacterium carotovorum*: taxonomia, identificação, sintomatologia, epidemiologia e controle. **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia-Documentos (INFOTECA-E)**, 2008.

CARVALHO, Ordones Danyell Thadeu *et al.* Análise da ação cicatrizante de *Solidago Microglossa* (arnica). In: **27ª Mostra Específica de Trabalhos e Aplicações**. 2017. A

CARVALHO, Thayslan Renato Anchiêta *et al.* Índice de área foliar em Caatinga preservada. **Conexões-Ciência e Tecnologia**, v. 11, n. 1, p. 35-42, 2016. B

CASTRO, maqueda *et al.* Sun Exposure and Photoprotection: Habits, Knowledge and Attitudes Among Elite Kitesurfers. **Journal of Cancer Education**, p. 1-7, 2020.

CATALDO, Federico S. *et al.* Linfoma T/NK EBER positivo en paciente con linfocitopenia CD4 idiopática. *Medicina (Buenos Aires)*, v. 81, n. 3, p. 458-461, 2021.

CHAPMAN, Reginald Frederick; CHAPMAN, Reginald Frederick. **The insects: structure and function**. Cambridge university press, 1998.

CHARUNGCHITRAK, Sarinya *et al.* Antifungal and antibacterial activities of lectin from the seeds of Archidendron jiringa Nielsen. **Food chemistry**, v. 126, n. 3, p. 1025-1032, 2011.

CHARUNGCHITRAK, Sarinya *et al.* Antifungal and antibacterial activities of lectin from the seeds of Archidendron jiringa Nielsen. **Food chemistry**, v. 126, n. 3, p. 1025-1032, 2011.

CHENG, Jianping et al. Research Progress in Phytopathogenic Fungi and Their Role as Biocontrol Agents. *Frontiers in Microbiology*, v. 12, p. 1209, 2021.

CIURA, Krzesimir et al. Thin layer chromatography in drug discovery process. *Journal of Chromatography A*, v. 1520, p. 9-22, 2017.

COELHO, Julice Medeiros et al. O efeito da sulfadiazina de prata, extrato de ipê-roxo e extrato de barbatimão na cicatrização de feridas cutâneas em ratos. *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões*, v. 37, p. 045-051, 2010.

COELHO, Luana Cassanda Breitenbach Barroso et al. Lectins as antimicrobial agents. *Journal of Applied Microbiology*, v. 125, n. 5, p. 1238-1252, 2018.

COELHO, Luana Cassanda Breitenbach Barroso et al. Simple method to purify milligram quantities of the galactose-specific lectin from the leaves of Bauhinia monandra. *Phytochemical Analysis*, v. 11, n. 5, p. 295-300, 2000.

COLARES, Carlos Matheus Pierson et al. Cicatrização e tratamento de feridas: a interface do conhecimento à prática do enfermeiro. *Enfermagem em Foco*, v. 10, n. 3, 2019.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S.; **Fundamentos de cromatografia**. Campinas, SP:UNICAMP, 2006

COLLINS, Carol Hollingworth; BRAGA, Gilberto Leite; BONATO, Pierina Sueli. **Introdução a métodos cromatográficos**, 1997.

CORDEIRO, Bruna Maria Pereira Costa et al. Hexane extract from *Spondias tuberosa* (Anacardiaceae) leaves has antioxidant activity and is an anti-Candida agent by causing mitochondrial and lysosomal damages. *BMC complementary and alternative medicine*, v. 18, n. 1, p. 1-10, 2018.

CORIOLO, Marília Cavalcanti et al. Antibacterial lectin from *Moringa oleifera* seeds (WSMoL) has differential action on growth, membrane permeability and protease secretory ability of Gram-positive and Gram-negative pathogens. *South African Journal of Botany*, v. 129, p. 198-205, 2020.

CORREA, Jéssica Santos et al. Influência do extrato hidroetanólico das folhas de *Tropaeolum majus* na restauração tecidual em lesões cutâneas. *Saúde e Pesquisa*, v. 9, n. 1, p. 101-109, 2016.

CORTES, Hernan. **Multidimensional chromatography: techniques and applications**. CRC Press, 2020.

COSTA, Ricardo Bezerra *et al.* Purification and characterization of a lectin with refolding ability from *Genipa americana* bark. **International journal of biological macromolecules**, v. 119, p. 517-523, 2018.

CUNHA, Luiz Carlos da *et al.* Avaliação da toxicidade aguda do extrato aquoso de *Apeiba tibourbou* Aubl (Tiliaceae), em camundongos e ratos. 2013.

DADGOSTAR, Porooshat. Antimicrobial resistance: implications and costs. **Infection and drug resistance**, v. 12, p. 3903, 2019.

DALMAGRO, Ana Paula *et al.* Seasonal variation in the antioxidant phytochemicals production from the *Morus nigra* leaves. **Industrial Crops and Products**, v. 123, p. 323-330, 2018.

DE VARGAS, Fabiano S. *et al.* Antioxidant activity and peroxidase inhibition of Amazonian plants extracts traditionally used as anti-inflammatory. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 16, n. 1, p. 1-8, 2016.

DEES, Merete Wiken *et al.* *Pectobacterium polaris* sp. nov., isolated from potato (*Solanum tuberosum*). **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 67, n. 12, p. 5222-5229, 2017.

DEGANI, Ana Luiza G.; CASS, Quezia B.; VIEIRA, Paulo C. Cromatografia um breve ensaio. **Química nova na escola**, v. 7, n. 1, 1998.

DEGANO, Ilaria; NASA, Jacopo La. Trends in high performance liquid chromatography for cultural heritage. **Analytical chemistry for cultural heritage**, p. 263-290, 2017.

DELALOYE, Julie; CALANDRA, Thierry. Invasive candidiasis as a cause of sepsis in the critically ill patient. **Virulence**, v. 5, n. 1, p. 161-169, 2014.

DENGO, Bruna Luiza; FERREIRA, João Ronaldo Notargiacomo. Avaliação *in vitro* do potencial fotoprotetor do extrato do bagaço da uva Isabel (*Vitis Labrusca* L). **Evidência**, v. 17, n. 1, p. 45-56, 2017.

DESHMUKH, Loknath; SINGH, Rajendra; SANDHU, Sardul Singh. Broad **Efficacy of Scavenging Free Radicals: Cordyceps sp.** In: Antioxidants-Benefits, Sources, Mechanisms of Action. IntechOpen, 2021.

DEUSCHLE, Viviane *et al.* *Persea americana* Mill. crude extract exhibits antinociceptive effect on UVB radiation-induced skin injury in mice. **Inflammopharmacology**, v. 27, n. 2, p. 323-338, 2019.

DOS SANTOS POMPEU, Gisele do Socorro; DA SILVA SANTOS, Verônica de Paula; DA SILVA, Erveton. Manejo de agroflorestas na amazônia tocantina: percepções de famílias agricultoras para a educação agroflorestal. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 16, n. 1, p. 41, 2021.

DOS SANTOS SILVA, Priscila Marcelino et al. Insights into anti-pathogenic activities of mannose lectins. **International journal of biological macromolecules**, v. 140, p. 234-244, 2019.

DOWNER, Eric et al. Anti-inflammatory Potential of Terpenes Present in *Cannabis sativa* L. **ACS chemical neuroscience**, v. 11, n. 5, p. 659-662, 2020.

DUTTA, Shubhankar; BOSE, Kakoli. Protein Purification by Affinity Chromatography. In: **Textbook on Cloning, Expression and Purification of Recombinant Proteins**. Springer, Singapore, 2022. p. 141-171.

EL-GUEZZANE, C. et al. A comparative study of the antioxidant activity of two Moroccan prickly pear cultivars collected in different regions. **Chemical Data Collections**, v. 31, p. 100637, 2021.

ESTRELA, Tatiana Silva. Resistência antimicrobiana: enfoque multilateral e resposta brasileira. Brasil, Ministério da Saúde, Assessoria de Assuntos Internacionais de Saúde. **Saúde e Política Externa**, v. 20, p. 1998-2018, 2018.

FABRI, R. L. et al. Potencial antioxidante e antimicrobiano de espécies da família Asteraceae. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 13, p. 183-189, 2011.

FANALI, Salvatore et al. (Ed.). **Liquid chromatography: applications**. Elsevier, 2017.

FANG, Wenxia; LATGÉ, Jean-Paul. Microbe profile: *Aspergillus fumigatus*: a saprotrophic and opportunistic fungal pathogen. **Microbiology**, v. 164, n. 8, p. 1009, 2018.

FARIAS, Maxmiliana Fernanda Alves Mariano Soares de. **Purificação, caracterização e atividade imunomoduladora de uma lectina da semente da Castanha-da-índia (*Aesculus hippocastanum* L.)**. Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Fisiologia) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2020. Disponível em : <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/40063>

FEBRAPDP. **Evolução da área cultivada no sistema de plantio direto na palha – Brasil.** 2013. Disponível em: <<http://www.iea.sp.gov.br/ftpiea/publicacoes/IE/2016/tec1-1216.pdf>> Acesso em: 20 set. 2021.

FERNANDES, Luciana Cristina Borges *et al.* Sciatic nerve-conditioned medium with the addition of *Croton blanchetianus* Baill essential oil promotes morphological plasticity in spinal cord cultured cells. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 5, p. e5410514591-e5410514591, 2021.

FERREIRA, et al. Coagulant and antibacterial activities of the water-soluble seed lectin from *Moringa oleifera*. **Letters in applied microbiology**, v. 53, n. 2, p. 186-192, 2011.

FERRIS, Frank. *et al.* Palliative wound care: managing chronic wounds across life's continuum: a consensus statement from the International Palliative Wound Care Initiative. **Journal of Palliative Medicine**, v. 10, n. 1, p. 37-39, 2007.

FIEDOR, Joanna; BURDA, Květoslava. Potential role of carotenoids as antioxidants in human health and disease. **Nutrients**, v. 6, n. 2, p. 466-488, 2014.

FIGUEIRA, Fernanda Ramos *et al.* Ação antifúngica de um jato de plasma não-termico de hélio/ar comprimido sobre biofilmes de *Candida albicans*. **Revista Univap**, v. 22, n. 40, p. 328, 2017.

FREIRE, Francisco das Chagas Oliveira. A introdução de fitopatógenos e doenças emergentes na agricultura cearense. **Essentia-Revista de Cultura, Ciência e Tecnologia da UVA**, v. 16, n. 2, 2015.

FREITAS MENDES, Renata *et al.* Potencial antioxidante e metabólitos especiais de *coffea arabica*: revisão de literatura. **Anais do Seminário Científico do UNIFACIG**, n. 6, 2021.

FREITAS, Anderson Felipe Soares *et al.* Toxicity assessment and antinociceptive activity of an ethanolic extract from *Croton blanchetianus* (Euphorbiaceae) leaves. **South African Journal of Botany**, v. 133, p. 30-39, 2020.

GALIZA, Glauco *et al.* Intoxicação por *Portulaca elatior* (Portulacaceae) em caprinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, p. 465-470, 2011.

GAUTAM, Ajay Kumar *et al.* Characterization of chickpea (*Cicer arietinum* L.) lectin for biological activity. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 24, n. 3, p. 389-397, 2018.

GEDAWY, Ahmed; AL-SALAMI, Hani; DASS, Crispin R. Development and validation of a new analytical HPLC method for simultaneous determination of the antidiabetic drugs, metformin and gliclazide. **journal of food and drug analysis**, v. 27, n. 1, p. 315-322, 2019.

GHOSH, Tanmay et al. In-vitro study on the hemolytic activity of different extracts of Indian medicinal plant *Croton bonplandianum* with phytochemical estimation: A new era in drug development. **Journal of Drug Delivery and Therapeutics**, v. 8, n. 4, p. 155-160, 2018.

GOMES, F. S. et al. Antimicrobial lectin from *Schinus terebinthifolius* leaf. **Journal of applied microbiology**, v. 114, n. 3, p. 672-679, 2013.

GONTIJO, Douglas Costa et al. Assessment of the phenolic content, mutagenicity and genotoxicity of ethanolic extracts of stem bark and leaves from *Strychnos pseudoquina* A. St.-hil. **Drug and chemical toxicology**, v. 43, n. 5, p. 539-545, 2020.

GRANT, Norman et al. Studies on porcine elastase and proelastase. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 66, n. 2, p. 396-403, 1957.

GUINÉ, Raquel de Pinho Ferreira et al. Evaluation of phenolic and antioxidant properties of strawberry as a function of extraction conditions. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 23, 2020.

GUO, Hang; KOUZUMA, Yoshiaki; YONEKURA, Masami. Structures and properties of antioxidative peptides derived from royal jelly protein. **Food Chemistry**, v. 113, n. 1, p. 238-245, 2009.

HAEGLER, Patrizia et al. Hepatocellular toxicity of imidazole and triazole antimycotic agents. **Toxicological Sciences**, v. 157, n. 1, p. 183-195, 2017

HENDRIKSMA, Harmen P. et al. Effects of multiple Bt proteins and GNA lectin on in vitro-reared honey bee larvae. **Apidologie**, v. 43, n. 5, p. 549-560, 2012.

JANNING, Denise; ALBUQUERQUE, Cláudia AC; BARAUNA, Sara C. Avaliação preliminar do extrato hidroalcoólico de *Tabernaemontana catharinensis* no processo de cicatrização de feridas em pele de ratos (*Rattus norvegicus*). **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 8, n. 3, p. 12-12, 2011.

JAWORSKA, Małgorzata M.; ANTOS, Dorota; GÓRAK, Andrzej. Review on the application of chitin and chitosan in chromatography. **Reactive and Functional Polymers**, v. 152, p. 104606, 2020.

JOLY, Aylthon Brandão. **Botânica; introdução à taxonomia vegetal**. 1966.

JOSÉ, M. T. DE A. F. *et al.* Flavonoids as photoprotective agents: A systematic review. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 10, n. 47, p. 848–864, 2016

KANDI, Sridhar; CHARLES, Albert Linton. Statistical comparative study between the conventional DPPH spectrophotometric and dropping DPPH analytical method without spectrophotometer: Evaluation for the advancement of antioxidant activity analysis. **Food chemistry**, v. 287, p. 338-345, 2019.

KANDI, Sridhar; CHARLES, Albert Linton. Statistical comparative study between the conventional DPPH spectrophotometric and dropping DPPH analytical method without spectrophotometer: Evaluation for the advancement of antioxidant activity analysis. **Food chemistry**, v. 287, p. 338-345, 2019.

KELLERMANNI, Raygoria Cabral Sales. Uso de fotoprotetores na prevenção de danos por exposição solar: conceitos, avaliação histórica e recomendações. **Scire Salutis**, v. 11, n. 2, p. 171-180, 2021.

KHALSA, Kiranjit K. *et al.* Immunologic characterization of patients with chronic mucocutaneous candidiasis disease. **Clinical Case Reports**, v. 7, n. 1, p. 180, 2019.

KIM, Hye-Jin *et al.* Nystatin-like *Pseudonocardia* polyene B1, a novel disaccharide-containing antifungal heptaene antibiotic. **Scientific reports**, v. 8, n. 1, p. 1-8, 2018.

KOWALSKA, Grażyna; PANKIEWICZ, Urszula; KOWALSKI, Radosław. Estimation of pesticide residues in selected products of plant origin from Poland with the use of the HPLC-MS/MS technique. **Agriculture**, v. 10, n. 6, p. 192, 2020.

KSIEZOPOLSKA, Ewa; GABALDÓN, Toni. Evolutionary emergence of drug resistance in *Candida* opportunistic pathogens. **Genes**, v. 9, n. 9, p. 461, 2018.

KUMAR, S.; PANDEY, Abhay K. Free radicals: health implications and their mitigation by herbals. **Journal of Advances in Medicine and Medical Research**, p. 438-457, 2015.

LAZZAROTTO-FIGUEIRÓ, J. *et al.* Atividade antioxidante, antibacteriana e efeito inibidor de dissacaridases intestinais de extratos obtidos das sementes de *Eugenia uniflora* L. **Brazilian Journal of Biology**, v. 81, n. 2, p. 291-300, 2021.

LEHNINGER, T. M., NELSON, D. L. & COX, M. M. Princípios de Bioquímica. 6ª Edição, 2014. **Ed. Artmed**.

LEMES, Ailton Cesar et al. Potencial Antioxidante de Proteínas Extraídas de Feijão Comum (*Phaseolus vulgaris*) cv. BRSMG-Madrepérola. *UNICIÊNCIAS*, v. 22, n. 3Esp, p. 38-42, 2018.

DA SILVA LIMA, Alessandra Dayane; DE SOUSA, Regina Guimarães; LIMA, Ellison Neves. E. N. Incremento da atividade fotoprotetora e antioxidante de cosméticos contendo extratos vegetais da caatinga. **Brazilian Journal of Natural Sciences**, [S. l.], v. 3, n. 1, p. 225, 2020.

LINEWEAVER, H.; JANG, Rosie. Specificity and purification of polygalacturonase. **Archives of biochemistry**, v. 20, n. 1, p. 137-152, 1949.

LOPES, Carla Vanessa Alves; ALBUQUERQUE, Guilherme Souza Cavalcanti de. Agrotóxicos e seus impactos na saúde humana e ambiental: uma revisão sistemática. **Saúde em debate**, v. 42, p. 518-534, 2018.

LOURIDO, K.A et al. Análise fitoquímica e atividade antifúngica do extrato etanólico do resíduo de folhas e madeira de macacaporanga. **Revista Agroecossistemas**, v.10, n. 2, p. 177-186, 2018

LUCAS, Esther Maria Ferreira et al. Otimização da extração de terpenos bioativos do *Plectranthus amboinicus* por maceração e infusão assistidas por ultrassom. In: **15ª Semana de Ciência & Tecnologia 2019-CEFET-MG**. 2019. B

LUCAS, R. M. et al. Human health in relation to exposure to solar ultraviolet radiation under changing stratospheric ozone and climate. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 18, n. 3, p. 641-680, 2019. A

LUNA-VITAL, D.A. et al. Biological potential of protein hydrolysates and peptides from common bean (*Phaseolus vulgaris* L.): a review. *Food Res. Int.*, v.10, p.1010-1016, 2014.

MAGALHÃES, Bárbara Elizabeth Alves; DOS SANTOS, Walter Nei Lopes. Capacidade antioxidante e conteúdo fenólico de infusões e decocções de ervas medicinais. Almeida Júnior, S. **Produtos Naturais e Suas Aplicações: da comunidade para o laboratório**. Guarujá, SP: Científica Digital, p. 234-247, 2021.

MAGALHÃES, C. F. C. B.; GOMES, J. G. F.; ANDRADE, W. T. B. de.; NASCIMENTO, Y. G. do.; LEITE, N. F. de B.. In silico evaluation of the antiinflammatory potential of indolic alkaloids present in the seeds of *Couroupita guianensis*. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 2, p. e27810212514-e27810212514, 2021.

MALAGÓN-ROJAS, Jeadran N.; BARRERA, Eliana L. Parra; LAGOS, Luisa. From environment to clinic: the role of pesticides in antimicrobial resistance. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 44, 2020.

MANICA, Aline; LANG, Maria Teresa Granella. Relação entre o desenvolvimento do melanoma cutâneo e o estresse oxidativo. **Rev. bras. anal. clin**, p. 22-25, 2017.

MANSUR, João de Souza *et al.* Correlação entre a determinação do fator de proteção solar em seres humanos e por espectrofotometria. **Anais Brasileiros Dermatológicos**, p. 167-72, 1986.

MARQUES, Luis Carlos. Preparação de extratos vegetais. **Jornal Brasileiro de Fitomedicina**, v. 3, n. 2, p. 74-76, 2005.

MARTÍNEZ, María Mayda Oliva; GÓMEZ, Ana Lina Báez. Epidemia silente del siglo XXI. Resistencia microbiana a los antibióticos. **Medimay**, v. 26, n. 2, p. 233-247, 2019.

MEDEIROS, Márcia Noelle Cavalcante; MEDEIROS, Marília Cavalcante; SILVA, Maria Beatriz Araújo. Intoxicação aguda por agrotóxicos anticolinesterásicos na cidade do Recife, Pernambuco, 2007-2010. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 23, p. 509-518, 2014.

MELLO, Marcelo Rodrigues Figueira *et al.* Redução da podridão mole em couve-chinesa mediada por indutores de resistência. **CIENTEC-Revista de Ciência, Tecnologia e Humanidades do IFPE**, v. 9, n. 2, 2018.

MELO, Rodrigo Wesley Nascimento *et al.* Avaliação do perfil metabólico de extratos aquosos e hidroalcoólicos de sementes de *Crotalaria* spp. In: **Embrapa Agroenergia-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: ENCONTRO DE PESQUISA E INOVAÇÃO DA EMBRAPA AGROENERGIA, 6., 2020, Brasília, DF. Anais... Brasília, DF: Embrapa, 2020., 2020.

MENGISTU, Alemu *et al.* Charcoal rot disease assessment of soybean genotypes using a colony-forming unit index. **Crop Science**, v. 47, n. 6, p. 2453-2461, 2007.

MENGISTU, Alemu *et al.* Evaluation of soybean genotypes for resistance to charcoal rot. **Plant Health Progress**, v. 12, n. 1, p. 6, 2011.

MENGISTU, Alemu *et al.* Identification of soybean accessions resistant to *Macrophomina phaseolina* by field screening and laboratory validation. **Plant Health Progress**, v. 14, n. 1, p. 25, 2013.

MENOZZI, Cheyene Almeida Celestino *et al.* Otimização da síntese do fluconazol: um importante fármaco antifúngico da classe dos azóis. **Revista Virtual de Química**. Rio de Janeiro (RJ), v. 9, n. 3, p. 1216-1234, 2017.

MENTO SILVA, Sandro do Naschi *et al.* Purification and partial characterization of lectins from *Albizia zerumbet* (Zingiberaceae) leaves and flowers. **SANDRO DO NASCHI MENTO SILVA**, p. 58, 2013.

MIROŃCZUK-CHODAKOWSKA, Iwona; WITKOWSKA, Anna Maria; ZUJKO, Małgorzata Elżbieta. Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body. **Advances in medical sciences**, v. 63, n. 1, p. 68-78, 2018.

MOHANIA, Dheeraj *et al.* Ultraviolet radiations: Skin defense-damage mechanism. **Ultraviolet Light in Human Health, Diseases and Environment**, p. 71-87, 2017.

MOURA, Kézia Santana *et al.* Coagulant Activity of Water-Soluble *Moringa oleifera* Lectin Is Linked to Lowering of Electrical Resistance and Inhibited by Monosaccharides and Magnesium Ions. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 180, n. 7, p. 1361–1371, 2016.

MOURA, Naiara *et al.* Ensaios toxicológicos: Um estudo sobre a utilização de testes *in vivo* e *in vitro*. **Enciclopédia biosfera**, v. 8, n. 15, 2012.

MUHAMAD, Ida I. *et al.* Extraction technologies and solvents of phytochemicals from plant materials: physicochemical characterization and identification of ingredients and bioactive compounds from plant extract using various instrumentations. **Academic Press**, 2017. p. 523-560.

MUNDAY, Rex *et al.* Acute toxicity of gymnodimine to mice. **Toxicon**, v. 44, n. 2, p. 173-178, 2004.

NAPOLEÃO, Thiago Henrique *et al.* Insect midgut structures and molecules as targets of plant-derived protease inhibitors and lectins. *Pest Management*, v.75, p.1212-1222, 2019.

NARAYANASAMY, K.; RAGAVAN, B. In vitro antioxidant activity of *Zanthoxylum Tetraspermum* (W&A) stem bark. **Int J Eng Sci Technol**, v. 4, p. 155-62, 2012.

NASCIMENTO, A. C. C. B., *et al.* Avaliação do efeito fotoprotetor e atividade antioxidante de extratos derivados do cajueiro. In.: XXXVI **Encontro de Iniciação Científica**. Encontros Universitários da UFC, Fortaleza, v. 2, 2017

NAYAK, B. S.; PEREIRA, Lexley M. Pinto. *Catharanthus roseus* flower extract has wound-healing activity in Sprague Dawley rats. **BMC Complementary and Alternative medicine**, v. 6, n. 1, p. 41, 2006.

NEMOTO, A. et al. Monitoring of non-steroidal anti-inflammatory drugs in hydric media from the Bragança region. **XXVI Encontro Nacional da Sociedade Portuguesa de Química**, p. 230, 2019.

NORTHROP, John. Crystalline pepsin: VI. Inactivation by Beta and Gamma Rays from Radium and by Ultra-Violet Light. **The Journal of general physiology**, v. 17, n. 3, p. 359, 1934.

Nunes Jr, José Aldemir Teixeira, et al. "Avaliação do efeito do extrato hidroalcoólico de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Aroeira) no processo de cicatrização da linea alba de ratos." **Acta Cirúrgica Brasileira** 21 (2006): 8-15.

OLIVEIRA, Ana Patrícia Silva et al. Evaluation of the insecticidal activity of *Moringa oleifera* seed extract and lectin (WSMoL) against *Sitophilus zeamais*. **Journal of stored products research**, v. 87, p. 101615, 2020.

OLIVEIRA, Eliana Medeiros. **Estudo dos efeitos da radiação ultravioleta-b na organização celular durante o desenvolvimento inicial de *Nemalion helminthoides* (velley in with.) batters (nemaliales, rhodophyta): aspectos morfológicos e ultraestruturais**. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, p.24, 2012

OLIVEIRA, M. D. L. et al. Purification of a lectin from *Eugenia uniflora* L. seeds and its potential antibacterial activity. *Letters in applied microbiology*, v. 46, n. 3, p. 371-376, 2008.

OLIVEIRA, M. D. L. et al. Purification of a lectin from *Eugenia uniflora* L. seeds and its potential antibacterial activity. *Letters in applied microbiology*, v. 46, n. 3, p. 371-376, 2008.

OLIVEIRA, Simone Helena dos Santos; SOARES, Maria Julia Guimarães Oliveira; ROCHA, Pascale de Sousa. El uso de colágeno y *Aloe vera* en el tratamiento de la herida isquémica: estudio de caso. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 44, n. 2, p. 346-351, 2010.

OLIVEIRA, Temístocles Soares de *et al.* Intoxicação por *Portulaca elatior* (Portulacaceae) em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, p. 785-789, 2017.

OLJAČIĆ, Slavica *et al.* Analysis of the retention behavior of selected antipsychotics and their impurities by thin-layer chromatography. **JPC-Journal of Planar Chromatography-Modern TLC**, v. 30, n. 5, p. 340-349, 2017.

OLSZOWY, Małgorzata. What is responsible for antioxidant properties of polyphenolic compounds from plants?. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 144, p. 135-143, 2019.

OLSZOWY, Małgorzata; DAWIDOWICZ, Andrzej L. Is it possible to use the DPPH and ABTS methods for reliable estimation of antioxidant power of colored compounds?. **Chemical Papers**, v. 72, n. 2, p. 393-400, 2018.

OLSZOWY, Małgorzata; DAWIDOWICZ, Andrzej. Is it possible to use the DPPH and ABTS methods for reliable estimation of antioxidant power of colored compounds?. **Chemical Papers**, v. 72, n. 2, p. 393-400, 2018.

ORLANDA, J. F. F.; VALE, V. V. Análise fitoquímica e atividade fotoprotetora de extrato etanólico de *Euphorbia tirucalli* Linneau (Euphorbiaceae). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 17, p. 730-736, 2015.

PAIVA, P.M.G. *et al.* Protease inhibitors from plants: Biotechnological insights with emphasis on their effects on microbial pathogens. In: MÉNDEZ-VILLAS, A. Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education. **Badajoz: Formatex Research Center**, 2013.

PAIVA, Patrícia Maria Guedes *et al.* Antimicrobial activity of secondary metabolites and lectins from plants. **Current research, technology and education topics in applied microbiology and microbial biotechnology**, v. 1, n. 2, p. 396-406, 2010.

PARRADO, Concepcion *et al.* The role of the aqueous extract *Polypodium leucotomos* in photoprotection. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 19, n. 6, p. 831-843, 2020.

PAZ JUNIOR, Francisco Braga *et al.* Prevalência de *Candida* em equipos das clínicas odontológicas da Faculdade de Odontologia de Pernambuco. **CIENTEC-Revista de Ciência, Tecnologia e Humanidades do IFPE**, v. 10, n. 1, 2019.

PAZINATTO, Caroline. **Avaliação *in vitro* da capacidade antioxidante de grãos de amaranto (*Amaranthus Cruentus*)**. 2008. 95f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos,

Campinas, SP. Disponível em:
 <<http://www.repositorio.unicamp.br/handle/REPOSIP/256393>>. Acesso em: 10 ago. 2018.

PAZINATTO, Caroline. **Avaliação *in vitro* da capacidade antioxidante de grãos de amaranto (*Amaranthus cruentus*)**. 80 p. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008.

PELLIZZARO, Eduardo Filipe *et al.* Elaboração, revisão e implantação do POP de cromatografia de camada delgada para a verificação da conversão de triacilgliceróis a ésteres etílicos. In: Mostra nacional de iniciação científica e tecnológica interdisciplinar. Santa Rosa do Sul. 2015. **Anais**.

PEREIRA, Katily *et al.* Ethanolic extract of *Croton blanchetianus* Ball induces mitochondrial defects in *Leishmania amazonensis* promastigotes. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 92, 2020.

PERES, Terezinha Bonanho. Noções básicas de cromatografia. **Biológico, São Paulo**, v. 64, n. 2, p. 227-229, 2002.

PEUMANS, W. J.; DAMME, E. J. V. Lectins as plant defense proteins. **Plant physiology**, v. 109, n. 2, p. 347, 1995.

PEUMANS, W. J.; DAMME, E. J. V. Plant lectins: versatile proteins with important perspectives in biotechnology. **Biotechnology and Genetic Engineering Reviews**, v. 15, n. 1, p. 199-228, 1998.

PHANIENDRA, A.; JESTADI, D. B.; PERIYASAMY, L. Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. **Indian journal of clinical biochemistry**, v. 30, n. 1, p. 11-26, 2015.

PITT, James J. Principles and applications of liquid chromatography-mass spectrometry in clinical biochemistry. **The Clinical Biochemist Reviews**, v. 30, n. 1, p. 19, 2009.

POLONINI, H. C.; BRANDÃO, M. A. F.; RAPOSO, N. R. B. A natural broad-spectrum sunscreen formulated from the dried extract of Brazilian *Lippia sericea* as a single UV filter. **RSC advances**, v. 4, n. 107, p. 62566-62575, 2014.

POMPEU, Davia Guimaraes *et al.* Purification, partial characterization and antimicrobial activity of lectin from *Chenopodium quinoa* seeds. **Food Science and Technology**, v. 35, n. 4, p. 696-703, 2015.

PRAYITNO, Sutrisno Adi; RAHIM, Andi Rahmad. Comparison of Extracts (Ethanol And Aquos Solvents) *Muntingia calabura* Leaves on Total Phenol, Flavonid And Antioxidant (Ic50) Properties. **Kontribusia (Research Dissemination for Community Development)**, v. 3, n. 2, p. 319-325, 2020.

PRISTO, Ilanna. Cicatrização de feridas: fases e fatores de influência. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 6, n. 4, p. 267-271, 2012.

PROCÓPIO, Thamara Figueiredo *et al.* CasuL: A new lectin isolated from *Calliandra surinamensis* leaf pinnulae with cytotoxicity to cancer cells, antimicrobial activity and antibiofilm effect. **International journal of biological macromolecules**, v. 98, p. 419-429, 2017.

PROSERPIO, G. *et al.* Natural sunscreens: vegetable derivatives as sunscreens and tanning agents. 1976.

QU, M. *et al.* Purification of a secreted lectin from *Andrias davidianus* skin and its antibacterial activity. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, v. 167, p. 140-146, 2015.

QU, Zhong *et al.* Concrete surface crack detection with the improved pre-extraction and the second percolation processing methods. **PloS one**, v. 13, n. 7, p. e0201109, 2018.

RAMOS, Carolina Silva *et al.* Efeito do extrato de coité (*Crescentia cujete*) sobre o reparo tecidual em lesões cutâneas não contaminadas e contaminadas em ratos. 2015. 70 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal), Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2015.

RAMOS, Dalila de Brito Marques *et al.* Evaluation of antitumor activity and toxicity of *Schinus terebinthifolia* leaf extract and lectin (SteLL) in sarcoma 180-bearing mice. **Journal of ethnopharmacology**, v. 233, p. 148-157, 2019.

RAMOS, Renata Magalhães *et al.* Estudo comparativo da composição fitoquímica, citotoxicidade e potencias antioxidante e fotoprotetor da casca e folha de *Erythrina velutina*. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 6, p. 33140-33158, 2020.

RAVNBAK, Mette Henriksen. Objective determination of Fitzpatrick skin type.

REGINA, Magali; DE BORBA, Roselei Alves. A Pesquisa Participante no Direcionamento de Tratamento de Fitopatógenos. **Revista Técnico Científica do IFSC**, v. 1, n. 6, p. 52, 2018.

REIS, Erlei Melo; CASA, Ricardo Trezzi; BIANCHIN, Vânia. Controle de doenças de plantas pela rotação de culturas. **Summa Phytopathologica**, v. 37, n. 3, p. 85-91, 2011.

REZENDE, LKBO et al. Os Benefícios da exposição solar a pesar das controvérsias: síntese de Vitamina D. **Revista de Iniciação Científica da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 5, n. 2, 2016.

RIBEIRO, Carlos Magno R. et al. A Videoaula “Cromatografia em Camada Delgada” e a Motivação da Aprendizagem nas Disciplinas Experimentais de Química Orgânica dos Cursos de Química, Engenharia Química e Farmácia da UFF. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 3, p. 1030-1055, 2015.

RIBEIRO, Ediane Maria Gomes. **Atividade antioxidante e polifenóis totais do fruto de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC) com e sem casca**. 2011. Tese de Doutorado. Dissertação de mestrado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

RIBEIRO, Jéssica Souza et al. Natural antioxidants used in meat products: A brief review. **Meat science**, v. 148, p. 181-188, 2019.

ROBERTS, Michael W.H et al. Versatility of polymethacrylate monoliths for chromatographic purification of biomolecules. **Journal of separation science**, v. 32, n. 15-16, p. 2485-2494, 2009.

ROCHA-FILHO, C. A. A. et al. Phytochemical analysis and evaluation of acute toxicity and antioxidant, antibacterial, and anti-inflammatory activities of ethanolic extracts from branches and leaves of *Jacaranda rugosa*. **South African Journal of Botany**, v. 135, p. 233-239, 2020

Rohrbach, P. Portulacaceae. In: Martius, C.F.P. & Eichler, A.G. (Eds.) **Flora Brasiliensis**. Munique, Lipsiae pp. 293–306, 1872.

ROMERO, José Camilo Torres et al. Isolamento de lectinas por cromatografia de afinidade. **RIAA**, v. 8, n. 1, p. 63-69, 2017.

ROOKU, K. C. et al. Opportunistic respiratory infections in HIV patients attending sukraraj tropical and infectious diseases hospital in Kathmandu, Nepal. **HIV/AIDS (Auckland, NZ)**, v. 11, p. 357, 2019.

SILVA OLIVEIRA, Fernanda Granja *et al.* Medicinal plants used in the Brazilian caatinga and the therapeutic potential of secondary metabolites: a review. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 10, n. 13, p. e140101321096, 2021.

SÁ, Roberto Araújo *et al.* Larvicidal activity of lectins from *Myracrodruon urundeuva* on *Aedes aegypti*. *Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology*, v. 149, p. 300–306, 2009.

SANTOS, A. F.S., DA SILVA, M. D. C., NAPOLEÃO, T. H., PAIVA, P. M. G., CORREIA, M. T. S., COELHO, L. C. B. B.. Lectins: Function, structure, biological properties and potential applications. **Current Topics in Peptide and Protein Research**, v. 15, 2014.

SANTOS, Andrea FS *et al.* Isolation of a seed coagulant *Moringa oleifera* lectin. **Process biochemistry**, v. 44, n. 4, p. 504-508, 2009.

SANTOS, L. M. M. *et al.* Anti-*Candida* activity of the water-soluble lectin from *Moringa oleifera* seeds (WSMoL). **Journal of Medical Mycology**, v. 31, n. 2, p. 101074, 2021.

SANTOS-SÁNCHEZ, Norma Francenia *et al.* Antioxidant compounds and their antioxidant mechanism. London, **UK: IntechOpen**, 2019.

SCHAFRANSKI, Kathlyn *et al.* Avaliação de compostos bioativos e atividade antioxidante de extratos de folhas de amoreira preta (*Morus nigra* L.) utilizando planejamento experimental. **Química Nova**, v. 42, p. 736-744, 2019.

SCHALKA, Sérgio *et al.* The benefits of using a compound containing *Polypodium leucotomos* extract for reducing erythema and pigmentation resulting from ultraviolet radiation. **Surgical & Cosmetic Dermatology**, v. 6, n. 4, p. 344-348, 2014.

SCHWAB, Valérie F. *et al.* Isolation of individual saturated fatty acid methyl esters derived from groundwater phospholipids by preparative high-pressure liquid chromatography for compound-specific radiocarbon analyses. **Water Resources Research**, v. 55, n. 3, p. 2521-2531, 2019.

SCHWAB, Valérie F. *et al.* Isolation of individual saturated fatty acid methyl esters derived from groundwater phospholipids by preparative high-pressure liquid chromatography for compound-specific radiocarbon analyses. **Water Resources Research**, v. 55, n. 3, p. 2521-2531, 2019.

SGARBI, Flávia Celina; CARMO, Eliane Dias do; ROSA, Luiz Eduardo Blumer. Radiação ultravioleta e carcinogênese. **Rev Cienc Med**, v. 16, p. 245-50, 2007.

SHAMI, Najua Juma Ismail Esh; MOREIRA, Emília Addison Machado. Licopeno como agente antioxidante. **Revista de Nutrição**, v. 17, p. 227-236, 2004.

SHARON, Nathan; LIS, Halina. Lectins: cell-agglutinating and sugar-specific proteins. *Science*, v. 177, n. 4053, p. 949-959, 1972.

SHETTIGAR, Kavitha; MURALI, Thokur Sreepathy. Virulence factors and clonal diversity of *Staphylococcus aureus* in colonization and wound infection with emphasis on diabetic foot infection. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, p. 1-12, 2020.

SILVA LIMA, Alessandra Dayane; DE SOUSA, Regina Guimarães; LIMA, Ellison Neves. Incremento da atividade fotoprotetora e antioxidante de cosméticos contendo extratos vegetais da caatinga. **Brazilian Journal of Natural Sciences**, v. 3, n. 1, p. 225-225, 2020.

SILVA NETO, João Xavier. **Purificação, caracterização bioquímica e atividade contra *Candida* spp. de uma nova proteína ligante à quitina de sementes de *Moringa oleifera* LAM.** 2015. 109p. Dissertação (Pós-Graduação em Bioquímica) Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 2015.

SILVA XAVIER, Yhasminie Karine *et al.* Atividade antioxidante do extrato etanólico de sementes e vagens de *Caesalpinia echinata*. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 3, n. 5, p. 11893-11900, 2020.

SILVA, Alessandra Dayane Lima; DE SOUSA, Regina Guimarães; LIMA, Ellison Neves. Incremento da atividade fotoprotetora e antioxidante de cosméticos contendo extratos vegetais da caatinga. **Brazilian Journal of Natural Sciences**, v. 3, n. 1, p. 225-225, 2020.

SILVA, Carlos Eduardo Sales. **Compostos bioativos de duas espécies de *Libidibia ferrea*: caracterização e propriedades biológicas.** Dissertação (Pós-graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 2015. Disponível em <https://attenua.ufpe.br/handle/123456789/24987>.

SILVA, José Dayvid Ferreira *et al.* *Portulaca elatior* root contains a trehalose-binding lectin with antibacterial and antifungal activities. **International journal of biological macromolecules**, v. 126, p. 291-297, 2019.

SILVA, Lucas Moraes. Sistema bragantino: um método inovador e alternativo de cultivo e produção agrícola que engloba rotação e consórcio de culturas com técnicas de plantio direto. **Revista Craibeiras de Agroecologia**, v. 1, n. 1, 2018. B

SILVA, Monique Ellen Torres da *et al.* Microalga *Scenedesmus obliquus*: extração de compostos bioativos e atividade antioxidante. **Revista Ciência Agronômica**, v. 52, 2021. B

SILVA, Natália Cristina Sousa *et al.* A utilização de plantas medicinais e fitoterápicos em prol da saúde. **Única cadernos acadêmicos**, v. 3, n. 1, 2017.

SILVA, Pollyanna Michelle *et al.* PgTeL, the lectin found in *Punica granatum* juice, is an antifungal agent against *Candida albicans* and *Candida krusei*. **International journal of biological macromolecules**, v. 108, p. 391-400, 2018. A

SILVA, Pollyanna Michelle. *et al.* The juicy sarcotesta of *Punica granatum* contains a lectin that affects growth, survival as well as adherence and invasive capacities of human pathogenic bacteria. **Journal of functional foods**, v. 27, p. 695-702, 2016.

SILVA, Priscila Marcelino dos Santos *et al.* Insights into anti-pathogenic activities of mannose lectins. **International journal of biological macromolecules**, v. 140, p. 234-244, 2019.

SILVA, Suéllen Pedrosa *et al.* Purification, Characterization, and Assessment of Antimicrobial Activity and Toxicity of *Portulaca elatior* Leaf Lectin (PeLL). **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, p. 1-13, 2021.

SINGH, P. Antioxidant activity of food proteins and food protein hydrolysates. **McGill University (Canada)**, 2011.

SIQUEIRA, Hiloma Rayssa Fernandes *et al.* Mecanismos biomoleculares do envelhecimento. **Anais CIEH**, v.2, n.1, 2015.

SOARES, DAGMAR MERCADO *et al.* Candidíase vulvovaginal: uma revisão de literatura com abordagem para *Candida albicans*. **Braz J. Surg and Clin Res-BJSCR**, v. 25, n. 1, p. 28-34, 2018.

SOUSA, Kamilla Alencar *et al.* Avaliação do efeito antimicrobiano de plantas medicinais sobre *Enterococcus faecalis* envolvidos em infecções endodônticas secundárias. **Archives of Health Investigation**, v. 7, 2018.

SOUSA, Sara Freitas *et al.* Análise fitoquímica e atividade antimicrobiana do extrato etanólico do resíduo madeireiro de *Hymenaea courbaril* L. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 11, n. 4, p. 72-80, 2020.

SOUZA, Gabriela Achete *et al.* Effects of *Ginkgo biloba* on diseases related to oxidative stress. **Planta medica**, v. 86, n. 06, p. 376-386, 2020.

SOUZA, Perla Gambato de. Uma revisão sobre plantas cicatrizantes no Brasil. 2016.

SOUZA, V. C.; HARRI, L. **Botânica Sistemática – APG III**. 3ed. 2009.

SPACKMAN, Erica; SITARAS, Ioannis. Hemagglutination inhibition assay. In: **Animal Influenza Virus**. Humana, New York, NY, 2020. p. 11-28.

SUCUPIRA, Natália Rocha et al. Métodos para determinação da atividade antioxidante de frutos. **Journal of Health Sciences**, v. 14, n. 4, 2012.

TAIZ, Lincoln et al. Fisiologia e desenvolvimento vegetal. **Artmed Editora**, 2017.

TORRES, Michelly Élen Leal Menezes et al. DdeL, a novel thermostable lectin from *Dypsis decaryi* seeds: Biological properties. **Process Biochemistry**, v. 86, p. 169-176, 2019.

TORRES, P. et al. Histatins, wound healing, and cell migration. **Oral diseases**, v. 24, n. 7, p. 1150-1160, 2018.

UNTEA, Arabela et al. Comparison of ABTS, DPPH, phosphomolybdenum assays for estimating antioxidant activity and phenolic compounds in five different plant extracts. *Bulletin UASVM Animal Science and Biotechnologies*, v. 75, n. 2, p. 111-114, 2018.

URTASUN, Nicolás et al. Lactoperoxidase purification from whey by using dye affinity chromatography. **Food and Bioproducts Processing**, v. 103, p. 58-65, 2017.

VALENTINI, Sérgio Alexandre et al. Controle de Qualidade de formas farmacêuticas tópicas utilizando diferentes extratos vegetais. **Revista Iniziare**, v. 2, n. 1, 2017.

VAN DE WEERT, Marco; STELLA, Lorenzo. Fluorescence quenching and ligand binding: A critical discussion of a popular methodology. **Journal of Molecular Structure**, v. 998, n. 1-3, p. 144-150, 2011.

VAN PARIJS, Jan et al. Hevein: an antifungal protein from rubber-tree (*Hevea brasiliensis*) latex. **Planta**, v. 183, n. 2, p. 258-264, 1991.

VASANTHY, M. et al. Treatment of coffee cherry pulping wastewater by using lectin protein isolated from *Ricinus communis* L. seed. **Journal of Water Process Engineering**, v. 39, p. 101742, 2021.

VELLOSA, José Carlos Rebuglio et al. Estresse oxidativo: uma introdução ao estado da arte. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 1, p. 10152-10168, 2021.

VICTORIO, Cristiane Pimentel et al. In vitro antimicrobial activity of *Alpinia zerumbet* and *A. purpurata* nonpolar fraction of leaf extract. *Revista Fitos*, v. 15, n. 2, p. 136-143, 2021.

VILAS-BOAS, Ana.; PINTADO, Manuela; OLIVEIRA, Ana. Natural Bioactive Compounds from Food Waste: Toxicity and Safety Concerns. *Foods*, v. 10, n. 7, p. 1564, 2021.

VILASBOAS, Diego Ives et al. Fluorimetria na análise farmacêutica: uma revisão. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 7, n. 1, p. 15-15, 2010.

VIOLATTI, Marcela Ribeiro; TEBALDI, Nilvanira Donizete. Detecção de *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* em sementes de soja. **Summa Phytopathologica**, v. 42, p. 268-270, 2016.

WALERON, Malgorzata et al. Transfer of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* strains isolated from potatoes grown at high altitudes to *Pectobacterium peruvienne* sp. nov. **Systematic and applied microbiology**, v. 41, n. 2, p. 85-93, 2018.

WANG, Hong; CAO, Guohua; PRIOR, Ronald L. Total antioxidant capacity of fruits. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 44, n. 3, p. 701-705, 1996.

WANG, Yufeng et al. Extraction, purification and physicochemical properties of a novel lectin from *Laetiporus sulphureus* mushroom. **Lwt**, v. 91, p. 151-159, 2018.

WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION) - Public Health Importance of Antimicrobial Resistance. Disponível em https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/112642/9789241564748_eng.pdf

WINGFIELD, Paul T. (Ed.). Protein precipitation using ammonium sulfate. **Current protocols in protein science**, v. 84, n. 1, p. A. 3F. 1-A. 3F. 9, 2016.

WINK, Michael; ROBERTS, Margaret F. Compartmentation of alkaloid synthesis, transport, and storage. In: *Alkaloids*. **Springer, Boston**, MA, 1998. p. 239-262.

XIU, Yunji et al. Isolation and characterization of two novel C-type lectins from the oriental river prawn, *Macrobrachium nipponense*. **Fish & shellfish immunology**, v. 46, n. 2, p. 603-611, 2015.

YANG, Jack; SAGIS, Leonard MC. Interfacial behavior of plant proteins—novel sources and extraction methods. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 56, p. 101499, 2021.

YANG, Li et al. Response of plant secondary metabolites to environmental factors. **Molecules**, v. 23, n. 4, p. 762, 2018.

YUAN, Hui et al. Carotenoid metabolism and regulation in horticultural crops. **Horticulture research**, v. 2, n. 1, p. 1-11, 2015.

ZHOU, Zhangping *et al.* Research Progress on Toxicity of Natural Compounds. **Proceedings of Anticancer Research**, v. 5, n. 2, 2021.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCIÊNCIAS
COMISSÃO DE ÉTICA DE USO ANIMAL
CEUA



PARECER

Este parecer trata do **Proc.:** nº 0081/2020 submetido pela professor Dr. Thiago Henrique Napoleão ao Comitê de Ética de Uso Animal para avaliação de camundongos de linhagem Swiss, no projeto intitulado **“AVALIAÇÃO DE ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE EXTRATOS PROTEICOS DE *Portulaca elatior* E *Croton blanchetianus*”**. Além projeto foi anexado o Protocolo de Uso de Animais Experimentais. Segundo o formulário anexado o projeto visa avaliar extratos de *P. elatior* e *C. blanchetianus* contendo lectinas quanto às atividades antioxidante e fotoprotetora in vitro e quanto à toxicidade e atividades anti-inflamatória e cicatrizante in vivo. Isto justifica-se porque a busca de novas moléculas que possuam atividades antioxidante, fotoprotetora e cicatrizante para que sejam utilizadas como ferramentas na produção de cosméticos, antioxidantes alimentícios e fármacos pode ampliar o leque de produtos disponíveis no mercado para essas finalidades, que podem ser ainda mais eficazes. O projeto está bem delineado experimentalmente, e encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 08 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 pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Centro de Biociências da Universidade de Pernambuco. O projeto está bem delineado experimentalmente e para sua aprovação solicito correção no formulário:

- 1- Data de início do projeto (item 1).
- 2- Quantitativo total de animais não está coerente com o número calculado. (item 9.2).

Finalidade	() Ensino (x) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	01/02/2021 à 01/07/2023
Espécie/linhagem/raça	Camundongo de linhagem Swiss
Número de animais	172
Peso/idade	60 dias/ 30-40 gramas
Sexo	132 Machos e 40 fêmeas
Biotério Origem	Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA) UFPE
Biotério manutenção	Laboratório de Experimentação Animal do Departamento de Bioquímica da UFPE

Recife, 10 de fevereiro de 2021

Depto. De Histologia e Embriologia - CB, UFPE

Reconhecer e Empreender para o Futuro
 Centro de Ciências Biológicas-UFPE
 Av. Moraes Rego, S/N. Cidade Universitária, Recife (PE), 50670-420.

ANEXO II – SÚMULA CURRICULAR



SIGAA - Sistema Integrado de Gestão de Atividades Acadêmicas
UFPE - UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
PROPG

Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE

Histórico Escolar - Emitido em: 15/02/2022 às 20:02

Dados Pessoais

Nome: **SUELLEN PEDROSA DA SILVA** Matrícula: **20193022260**
 Data de Nascimento: **09/04/1997** Local de Nascimento: **RECIFE/PE**
 Nome do Pai: **EXPEDITO AURELIO PEDROSA**
 Nome da Mãe: **MARIA DAS GRAÇAS NOGUEIRA**

Dados do Vínculo do Discente

Programa: **PROGRAMA DE POS-GRADUACAO EM CIENCIAS BIOLOGICAS - CB** Índices Acadêmicos
 Nível: **DOCTORADO** CR: **4.0**
(Índice de Coeficiente de Rendimento: 0.0 - 4.0)
 Curso: **CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**
 Currículo: **CBID09** Status: **ATIVO**
 Área de Concentração: **BIOLOGIA QUÍMICA PARA A SAÚDE**
 Linha de Pesquisa:
 Orientador: **1960817 - THIAGO HENRIQUE NAPOLEAO**
 Forma de Ingresso: **SELEÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO**
 Mês/Ano Inicial: **OUT/2019** Mês Atual: **29º**
 Trancamentos: **0 meses** Prazo para Conclusão (Padrão /SET/2023)
 Prorrogações: **0 meses**
 Tipo Saída:
 Mês/Ano de Saída: Data da Defesa:

Disciplinas e Atividades Cursadas/Cursando

Início	Fim	Componente Curricular	Turma	CH	C	Freq %	Conceito	Situação
06/2019	02/2020	DCB979 INTRODUÇÃO BIOINFORMÁTICA E BIOLOGIA DE SISTEMAS Dr. VALDIR DE QUEIROZ BALBINO (15h), Dra. FLAVIA FIGUEIRA ABURJAILE (30h), Dra. ANA MARIA BENKO (SEPPON) (15h)	IB	60	4	100,0	A	APROVADO
06/2019	02/2020	DCB982 DA EXTRAÇÃO A AVALIAÇÃO DA A FLORA CAATINGA COMO FONTE DE COMPOSTOS BIOATIVOS: Dra. MARCIA VANUSA DA SILVA (45h)	FC	45	3	100,0	A	APROVADO
03/2020	--	DCB895 ATIVIDADE DE ORIENTAÇÃO INDIVIDUAL	--	0	0	--	--	CANCELAMENTO O INSTITUCIONAL
07/2020	08/2020	DCB948 TÓPICOS ESPECIAIS - "BIOECONOMIA, SUSTENTABILIDADE E REGULAÇÃO AMBIENTAL" Dra. MARCIA VANUSA DA SILVA (45h)	02	45	3	100,0	A	APROVADO
11/2020	--	DCB895 ATIVIDADE DE ORIENTAÇÃO INDIVIDUAL	--	0	0	--	--	MATRICULADO
03/2021	--	DCB897 ATIVIDADE DE QUALIFICAÇÃO/PRÉ-BANCA DE DOUTORADO	--	0	0	--	--	MATRICULADO
--	--	DCB902 EVOLUÇÃO DO PENSAMENTO CIENTÍFICO	--	45	3	100,0	B	DISPENSADO
--	--	DCB904 SEMINÁRIOS EM BIOTECNOLOGIA	--	45	3	100,0	A	DISPENSADO
--	--	DCB959 BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR	--	45	3	100,0	A	DISPENSADO
--	--	DCB960 SEMINÁRIOS EM BIOLOGIA QUÍMICA PARA A SAÚDE	--	45	3	100,0	A	DISPENSADO
--	--	DCB966 INTERAÇÃO PLANTA-FUNGO	--	45	3	100,0	A	DISPENSADO
--	--	DCB967 PROTEÍNAS E SUAS APLICAÇÕES	--	45	3	100,0	A	DISPENSADO
--	--	DCB980 PROTEÍNAS INSETICIDAS	--	45	3	100,0	A	DISPENSADO



SIGAA - Sistema Integrado de Gestão de Atividades Acadêmicas
UFPE - UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
PROPG

Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE

Histórico Escolar - Emitido em: 15/02/2022 às 20:02

Nome:	SUELLEN PEDROSA DA SILVA	Matrícula:	20193022260
Carga Horária Integralizada/Pendente			
	Obrigatórias	Optativos	Total
Exigido	180 h	270 h	450 h
Integralizado	180 h	285 h	465 h
Pendente*	0 h	0 h	0 h

*Contabilizado com base no valor estabelecido no mínimo exigido da estrutura curricular.

Obs.: A coluna (C) indica os créditos dos componentes curriculares.

Componentes Curriculares Obrigatórios Pendentes:2

Código	Componente Curricular	CH
DCB899	TESE DE DOUTORADO	0 h
DCB897	ATIVIDADE DE QUALIFICAÇÃO/PRÉ-BANCA DE DOUTORADO	0 h

Atenção, agora o histórico possui uma verificação automática de autenticidade e consistência, sendo portanto dispensável a assinatura da coordenação do PPG ou da PROPG. Favor, ler instruções no rodapé.

CURRÍCULO LATTES

Formação acadêmica/titulação

- 2019** Doutorado em Ciências Biológicas.
Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, Brasil
Orientador: Thiago Henrique Napoleão
Co-orientador: Pollyanna Michelly da Silva
Bolsista do(a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
- 2017 - 2019** Mestrado em Ciências Biológicas.
Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, Brasil
Título: PURIFICAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE LECTINA DE FOLHAS DE *Portulaca elatior*, Ano de obtenção: 2019
Orientador: Thiago Henrique Napoleão
Co-orientador: Patrícia Paiva
- 2019** Especialização em Análises Clínicas.
Faculdade Alfa América, ALFA AMERICA, Brasil
- 2020** Graduação em Ciências Biológicas (L licenciatura).
Universidade Paulista, UNIP, São Paulo, Brasil
- 2014 - 2017** Graduação em Ciências Biológicas.
Universidade de Pernambuco, UPE, Recife, Brasil
- 2010 - 2013** Ensino Médio (2o grau) .
Colégio Batista Betânia, CBBG, Brasil, Ano de obtenção: 2013

Formação complementar

- 2018** Curso de curta duração em CAPACITAÇÃO NO USO E MANEJO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO. (Carga horária: 60h).
Universidade de São Paulo, USP, São Paulo, Brasil
- 2020 - 2020** Educação Ambiental e Desenvolvimento Sustentável. . (Carga horária: 20h).
Serviço Nacional de Aprendizagem do Transporte, SENAT, Curitiba, Brasil
- 2020 - 2020** Educação Ambiental. . (Carga horária: 20h).
Serviço Nacional de Aprendizagem do Transporte, SENAT, Curitiba, Brasil
- 2020 - 2020** Curso de curta duração em Covid-19: prevenção, manejo clínico e cuidados pós-morte,. (Carga horária: 30h).
Escola em saúde pública de pernambuco, ESPPE, Brasil
- 2020 - 2020** Atenção Integral à Saúde das Populações do Campo, da Floresta e das Águas. . (Carga horária: 60h).
Fundação Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Brasil
- 2020 - 2020** Curso de curta duração em Doença Falciforme - Conhecer para cuidar. (Carga horária: 30h).
TELELAB de educação permanente, TELELAB, Brasil
- 2020 - 2020** Manejo da Coinfecção Tuberculose-HIV. . (Carga horária: 60h).
Fundação Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Brasil

2020 - 2020	Conhecendo a Realidade da Saúde Indígena no Brasil. . (Carga horária: 60h). Universidade Federal de São Paulo, UNIFESP, Sao Paulo, Brasil
2019 - 2019	Extensão universitária em Aspectos bioquímicos e fisiológicos do metabolismo dos substratos energéticos. (Carga horária: 40h). Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, Brasil
2018 - 2018	Curso de curta duração em Gestão Local de Desastres Naturais para a Atenção Básica. (Carga horária: 60h). Universidade Federal de São Paulo, UNIFESP, Sao Paulo, Brasil
2014 - 2014	Curso de curta duração em Treinamento de Suporte Básico no Socorro a Vítimas com Ambiente Hostil. (Carga horária: 60h). SOS Anjos da Vida, SOS, Brasil
2011 - 2014	Curso de curta duração em Inglês. (Carga horária: 320h). Cultural Norte Americano, CNA, Brasil

Prêmios e títulos

2019	Menção Honrosa no I Simpósio de Proteínas Bioativas, UFPE
2016	Melhor trabalho na XV Semana do Biólogo, UPE
2016	Menção Honrosa no Encontro Nacional de Moringa, Complexo Multieventos da UNIVASF

Produção bibliográfica

Artigos completos publicados em periódicos

- DA SILVA, SUÉLLEN PEDROSA**; DA SILVA, JOSÉ DAYVID FERREIRA; DA COSTA, CLARICE BARBOSA LUCENA; DA SILVA, POLLYANNA MICHELLE; DE FREITAS, ANDERSON FELIPE SOARES; DA SILVA, CARLOS EDUARDO SALES; DA SILVA, ABDÊNIGO RODRIGUES; DE OLIVEIRA, ALISSON MACÁRIO; SÁ, ROBERTO ARAÚJO; PEIXOTO, ANA ROSA; DE OLIVEIRA, ANA PATRÍCIA SILVA; PAIVA, PATRÍCIA MARIA GUEDES; NAPOLEÃO, THIAGO HENRIQUE Purification, Characterization, and Assessment of Antimicrobial Activity and Toxicity of Portulaca elatior Leaf Lectin (PeLL). Probiotics and Antimicrobial Proteins. , v.X, p.X - , 2021.
- DA SILVA, SUÉLLEN PEDROSA**; LUCENA, C. B.; DA SILVA, JOSÉ DAYVID FERREIRA; FREITAS, A. F. S.; Alves, V. R.R; GUEDES, C. C. S.; MARINHO, A. O.; NAPOLEAO, T. H.; Paiva, P.M.G; DE SOUZA SILVA, GUILHERME ANTONIO Resistance mechanisms of Cryptococcus spp. and plant compounds as tools to combat them. RESEARCH, SOCIETY AND DEVELOPMENT. , v.10, p.1 - 22, 2021.
- DA SILVA, JOSÉ DAYVID FERREIRA; **DA SILVA, SUÉLLEN PEDROSA**; DA SILVA, POLLYANNA MICHELLE; VIEIRA, AMANDA MOTA; DE ARAÚJO, LARISSA CARDOSO CORREA; DE ALBUQUERQUE LIMA, THÂMARAH; DE OLIVEIRA, ANA PATRÍCIA SILVA; DO NASCIMENTO CARVALHO, LIDIANE VASCONCELOS; DA ROCHA PITTA, MAIRA GALDINO; DE MELO RÊGO, MOACYR JESUS BARRETO; PINHEIRO, IRAPUAN OLIVEIRA; ZINGALI, RUSSOLINA BENEDETA; DO SOCORRO DE MENDONÇA CAVALCANTI, MARIA; NAPOLEÃO, THIAGO HENRIQUE; PAIVA, PATRÍCIA MARIA GUEDES Portulaca elatior root contains a trehalose-binding lectin with antibacterial and antifungal activities. INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOLOGICAL MACROMOLECULES. , v.126, p.291 - 297, 2018.
- DE MENEZES, MANUELA ROCHA; ACIOLI, MARIA EDUARDA AZEVÊDO; DA TRINDADE, ANA CAROLINA LEMOS; **DA SILVA, SUÉLLEN PEDROSA**; DE LIMA, RAUL EMÍDIO; DA SILVA TEIXEIRA, VANESSA GABRYELLE; VASCONCELOS, LUYDSON RICHARDSON SILVA

Potential role of microRNAs as biomarkers in human glioblastoma: a mini systematic review from 2015 to 2020. *MOLECULAR BIOLOGY REPORTS*. , v.48, p.4647 - 4658, 2021.

5. DE SOUZA SILVA, GUILHERME ANTONIO; **DA SILVA, SUÉLLEN PEDROSA**; DA COSTA, MARCOS AURÉLIO SANTOS; DA SILVA, ABDÊNIGO RODRIGUES; DE VASCONCELOS ALVES, ROBSON RAION; ÂNGELO MENDES TENÓRIO, FERNANDA DAS CHAGAS; DA SILVA MELO, ALANNE RAYSSA; DE FREITAS, ANTONIO CARLOS; LAGOS DE MELO, CRISTIANE MOUTINHO SARS-CoV, MERS-CoV and SARS-CoV-2 infections in pregnancy and fetal development. *Journal of Gynecology Obstetrics and Human Reproduction*. , v.49, p.101846 - , 2020.

6. DE SOUZA SILVA, GUILHERME ANTONIO; **SILVA, S. P.**; DA SILVA, ABDÊNIGO RODRIGUES; LAGOS DE MELO, CRISTIANE MOUTINHO COVID-19: From viral infection to pulmonary failure. *Journal of Clinical Images and Medical Case Reports*. , v.2, p.1 - , 2021.

Capítulos de livros publicados

1. **Silva, Suéllen Pedrosa da**; Albuquerque, Lidiane Pereira de; Ferreira, Gustavo Ramos Salles; Silva, Pollyanna Michelle da; Procópio, Thamara Figueiredo; Pontual, Emmanuel Viana; PAIVA, PATRÍCIA MARIA GUEDES; NAPOLEÃO, THIAGO HENRIQUE ASPECTOS CLÍNICOS, DIAGNÓSTICOS, ESTRATÉGIAS DE PREVENÇÃO E TRATAMENTOS DA CRIPTOCOCOSE In: Fatores de virulência microbianos e terapias emergentes (Vol. 02 - Fungos).1 ed.: Latin American Publicações, 2021, p. 148-169.

2. SILVA, J. N. O.; GUEDES, C. C. S.; **SILVA, S. P.**; Alves, V. R.R; FREITAS, A. F. S. ESTUDOS ANTIMICROBIANOS COM Aloe vera: UMA REVISÃO In: Saúde: Os desafios da pesquisa na atualidade.3, 2021, p. 484-.

3. **DA SILVA, SUÉLLEN PEDROSA**; Alves, V. R.R; SILVA, J. N. O.; NAPOLEAO, T. H.; Paiva, P.M.G; SILVA, S. P. MECANISMOS DE RESISTÊNCIA DE CANDIDA SPP. FRENTE A ANTIMICROBIANOS CONVENCIONAIS E USO DE LECTINAS NO CONTROLE DESSES PATÓGENOS In: Saúde: Os desafios da pesquisa na atualidade.3, 2021, p. 585-.

4. Alves, V. R.R; **SILVA, S. P.**; GUEDES, C. C. S.; SILVA, J. N. O.; FREITAS, A. F. S. PREVALÊNCIA DA HIPERTENSÃO ARTERIAL EM PACIENTES QUE REALIZAM TRATAMENTO DE HEMODIÁLISE EM UM MUNICÍPIO DA PARAÍBA In: Enfermagem: Os desafios da pesquisa na atualidade.2, 2021, p. 551-.

5. **SILVA, S. P.**; NAPOLEÃO, THIAGO HENRIQUE Lectinas: Ferramentas para o combate de micoses In: Aqui se faz Ciência.1, 2020, v.1, p. 35-37.

6. ROCHA, M. M.; **SILVA, S. P.**; CAVALCANTI, L. C.F; SILVA, T. B. S. TRABALHANDO O DESCARTE CORRETO DOS RESÍDUOS NO ENSINO FUNDAMENTAL I In: Educação Ambiental do Ensino Superior: Uma relato de experiências.1 ed.Recife: Associação Brasileira das Editoras Universitárias, 2019, v.1, p. 19-23.

7. ROCHA, M. M.; CAVALCANTI, L. C.F; SILVA, S. P.; SILVA, T. B. S. Percepção e conscientização de estudantes do ensino fundamental sobre os resíduos sólidos In: Percepção e conscientização de estudantes do ensino fundamental sobre os resíduos sólidos.1 ed.Ituiutuba, MG: Barlavento, 2017, v.1, p. 1346-1354.

Trabalhos publicados em anais de eventos (completo)

1. Silva, L.LS; SILVA, S. P.; SILVA, S. C. C. AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DE LECTINAS DA SEMENTE DE Moringa oleífera WSMoL FRENTE A EMBRIÕES DE PEIXE PAULISTINHA (Danio rerio) In: Encontro Nacional de Moringa, 2019, Salvador. **Anais do VII Encontro Nacional de Moringa-ENAM 2018**. , 2018.

Trabalhos publicados em anais de eventos (resumo)

1. **SILVA, S. P.**; DA SILVA, JOSÉ DAYVID FERREIRA; COSTA, C. B. L.
ANTI-Candida ACTIVITY OF *Portulaca elatior* ROOT LECTIN In: 1st Brazil-France Symposium on Medicinal Chemistry, 2020, Recife.
ANNALS OF THE 1ST BRAZIL-FRANCE SYMPOSIUM ON MEDICINAL CHEMISTRY: DRUGS FOR INFECTIOUS DISEASES AND CANCER. Biofarm, 2020. v.16. p.21 - 21
2. DE VASCONCELOS ALVES, ROBSON RAION; **SILVA, S. P.**; NAPOLEÃO, THIAGO HENRIQUE
ANTIFUNGAL ACTIVITY OF *Moringa oleifera* SEED EXTRACT In: 1st Brazil-France Symposium on Medicinal Chemistry, 2019, Recife.
ANNALS OF THE 1ST BRAZIL-FRANCE SYMPOSIUM ON MEDICINAL CHEMISTRY: DRUGS FOR INFECTIOUS DISEASES AND CANCER. , 2020. v.16. p.34 - 34
3. DA SILVA, JOSÉ DAYVID FERREIRA; **SILVA, S. P.**
EVALUATION OF ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF *Portulaca elatior* ROOT LECTIN In: 1st Brazil-France Symposium on Medicinal Chemistry, 2019, Recife.
ANNALS OF THE 1ST BRAZIL-FRANCE SYMPOSIUM ON MEDICINAL CHEMISTRY: DRUGS FOR INFECTIOUS DISEASES AND CANCER. , 2020. v.16. p.46 - 46
4. AMORIM, P. K.; **DA SILVA, SUÉLLEN PEDROSA**
EVALUATION OF ANTIBACTERIAL ANTIBIOFILM ACTIVITIES OF *Bixa orellana* LEAF LECTIN In: 1st Brazil-France Symposium on Medicinal Chemistry, 2019, Recife.
ANNALS OF THE 1ST BRAZIL-FRANCE SYMPOSIUM ON MEDICINAL CHEMISTRY: DRUGS FOR INFECTIOUS DISEASES AND CANCER. , 2020. v.16. p.46 - 46

Apresentação de trabalho e palestra

1. SILVA, J. D. F.; **SILVA, S. P.**
Avaliação da atividade antimicrobiana e sinérgica de *Portulaca elatior* root lectin contra *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina., 2019. (Simpósio, Apresentação de Trabalho)
2. Bento, L. F. E; **SILVA, S. P.**
Avaliação de atividade antioxidante e fator de proteção solar do extrato salino de folhas de *Portulaca elatior*, 2019. (Simpósio, Apresentação de Trabalho)
3. Alves, V. R.R; **SILVA, S. P.**
Efeito da temperatura e íons bivalentes na atividade hemaglutinante da lectina das folhas de *portulaca elatior* (pell)., 2019. (Simpósio, Apresentação de Trabalho)
4. LUCENA, C. B.; **SILVA, S. P.**
Efeito da temperatura e íons bivalentes na atividade hemaglutinante da lectina das folhas de *portulaca elatior* (pell)., 2019. (Simpósio, Apresentação de Trabalho)
5. **SILVA, S. P.**
Palestra sobre Atividade Antiparasitária de Proteínas bioativas, 2019. (Simpósio, Apresentação de Trabalho)
6. AMORIM, P. K.; **SILVA, S. P.**
Purificação e caracterização de lectina de folhas de *Bixa orellana*, 2019. (Simpósio, Apresentação de Trabalho)
7. AMORIM, P. K.; SILVA, S. P.; NAPOLEAO, T. H.; Paiva, P.M.G
Antibacterial Lectin from *Bixa orellana* Leaves, 2018. (Congresso, Apresentação de Trabalho)

8. SILVA, J. C.; SILVA, S. P.; SILVA, J. D. F.; SILVA, C. E. S.; NAPOLEAO, T. H.; Paiva, P.M.G
Antimicrobial Activity of Lectin Preparation Leaf from *Chamaesyce hirta*, 2018.
(Congresso,Apresentação de Trabalho)
9. SILVA, S. P.; SILVA, J. D. F.; SILVA, C. E. S.; NAPOLEAO, T. H.; Paiva, P.M.G
Antioxidant Activity and Sun Protection Factor of Proteic Extract from *Portulaca elatior* Leaves, 2018. (Congresso,Apresentação de Trabalho)
10. SILVA, L. L. S.; SILVA, S. P.; NAPOLEAO, T. H.; Paiva, P.M.G
AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DE WSMoL FRENTE A EMBRIÕES DE PEIXE PAULISTINHA (*Danio rerio*), 2018. (Congresso,Apresentação de Trabalho)
11. Silva, L.LS; SILVA, S. C. C.; SILVA, S. P.; NAPOLEAO, T. H.; Paiva, P.M.G
EFEITOS DE FORMULAÇÃO SÓLIDA CONTENDO LECTINA DE SEMENTES DE *Moringa oleifera* NA ECLOSÃO DE OVOS E DESENVOLVIMENTO DE LARVAS DE *Aedes aegypti*, 2018.
(Congresso,Apresentação de Trabalho)
12. SILVA, J. D. F.; MOURA, M. C.; SILVA, S. P.; NAPOLEAO, T. H.; Paiva, P.M.G
EVALUATION OF ANTIBACTERIAL, SYNERGISTIC AND ANTI-VIRULENCE ACTIVITIES OF *PORTULACA ELATIOR* ROOT LECTIN AGAINST *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*, 2018.
(Simpósio,Apresentação de Trabalho)
13. SILVA, J. D. F.; SILVA, S. P.; SILVA, J. S.; NAPOLEAO, T. H.; Paiva, P.M.G
Evaluation of Antioxidant Activity of *Portulaca elatior* organic extracts, 2018.
(Congresso,Apresentação de Trabalho)
14. SILVA, J. D. F.; SILVA, S. P.; LIMA, W. S. F.; NAPOLEAO, T. H.; Paiva, P.M.G
Evaluation of Cytotoxic Activity of *Portulaca elatior* Root Lectin on Human Cancer Cells, 2018.
(Congresso,Apresentação de Trabalho)
15. SILVA, S. P.; SILVA, J. D. F.; Silva, L.LS; Paiva, P.M.G; NAPOLEAO, T. H.
Purification and Partial Characterization of a New Lectin from *Portulaca elatior* leaves with Antifungal activity, 2018. (Congresso,Apresentação de Trabalho)
16. ROCHA, M. M.; CAVALCANTI, L. C.F; SILVA, T. B. S.; **SILVA, S. P.**
Percepção e Conscientização de Estudantes do Ensino Fundamental sobre os Resíduos Sólidos, 2017. (Congresso,Apresentação de Trabalho)
17. SILVA, L. L. S.; SILVA, J. D. F.; NETA H. F. S. ; **SILVA, S. P.**
Antibacterial Activity of *Moringa oleifera* Seed Lectin (WSMoL) against Polymixin-Resistant *Klebsiella pneumoniae*, 2016. (Simpósio,Apresentação de Trabalho)
18. SILVA, J. D. F.; SILVA, S. P.; NAPOLEAO, T. H.
Antibacterial activity of *Portulaca elatior* root lectin on polymixin resistant and carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*, 2016. (Congresso,Apresentação de Trabalho)
19. SILVA, J. D. F.; SILVA, S. P.; Silva, L.LS; NAPOLEAO, T. H.; Paiva, P.M.G
Atividade antibacteriana da lectina solúvel em água de sementes de *Moringa oleifera* contra superbactéria resistente a Polimixina, 2016. (Congresso,Apresentação de Trabalho)
20. SILVA, S. P.; SILVA, J. D. F.; NAPOLEAO, T. H.
Investigação de atividade inseticida de preparações proteicas de *Portulaca elatior*, 2016.
(Congresso,Apresentação de Trabalho)
21. SILVA, J. D. F.; SILVA, S. P.; NAPOLEAO, T. H.; Paiva, P.M.G
LECTINA ANTIMICROBIANA DA RAIZ DE *Portulaca elatior*, 2016. (Simpósio,Apresentação de Trabalho)
22. SILVA, J. D. F.; SILVA, S. P.; Silva, L.LS; NAPOLEAO, T. H.; Paiva, P.M.G
Purificação e caracterização parcial de lectinas da raiz de *Portulaca elatior*, 2016.

(Congresso,Apresentação de Trabalho)

23. SILVA, J. D. F.; SILVA, S. P.; CAMARA, P. S. M. A.; SANTOS W. P. M.
Purification and Partial Characterization of Portulaca elatior Root Lectin, 2016.
(Congresso,Apresentação de Trabalho)

24. SILVA, S. P.; SILVA, J. D. F.; NAPOLEAO, T. H.
Investigação de proteínas antifúngicas em folha e caule de Portulaca elatior, 2015.
(Congresso,Apresentação de Trabalho)

Demais produções técnicas

1. **SILVA, S. P.**
Minicurso Práticas de Flebotomia, 2017. (Outro, Curso de curta duração ministrado)

Participações em eventos

1. Apresentação de Poster / Paineis no(a) **VIII Encontro Nacional de Moringa**, 2018. (Congresso)
AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DE WSMoL FRENTE A EMBRIÕES DE PEIXE PAULISTINHA (Danio rerio).

2. Apresentação de Poster / Paineis no(a) **XIV REUNIÃO REGIONAL DA SBBq**, 2018. (Congresso)
Purification and Partial Characterization of a New Lectin from Portulaca elatior leaves with Antifungal activity.

3. **Jornada de Iniciação Científica**, 2017. (Simpósio)
Investigação de atividade inseticida de preparações proteicas de Portulaca elatior (Mart. ex Rohrb).

4. **Aplicação biotecnológica para obtenção de fármacos**, 2016. (Oficina)

5. Apresentação de Poster / Paineis no(a) **International Symposium in Biochemistry of Macromolecules and Biotechnology**, 2016. (Congresso)
ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF PORTULACA ELATIOR ROOT LECTIN ON POLYMIXIN-RESISTANT AND CARBAPENEMASE-PRODUCING KLEBSIELLA PNEUMONIAE.

6. **Oficina Degustação de vinhos**, 2016. (Oficina)

7. **Potencial antimicrobiano de plantas medicinais**, 2016. (Oficina)

8. **XV Semana do Biólogo**, 2016. (Simpósio)
LECTINA ANTIMICROBIANA DA RAIZ DE PORTULACA ELATIOR.

9. **XV Semana do biólogo**, 2016. (Encontro)

10. **Encontro Nordestino de Genética Forense**, 2015. (Encontro)

11. **Genética forense e identificação humana**, 2015. (Oficina)

12. **Jornada Científica Facepe**, 2015. (Simpósio)
Investigação de proteínas antifúngicas em folhas e caules de Portulaca elatior (mart. ex rohreb).

13. **Seminários temáticos em Biologia Celular e Molecular Aplicada**, 2015. (Seminário)

.

14. **Tipagem sanguínea**, 2015. (Oficina)

.

15. **XIV Semana do Biólogo**, 2015. (Encontro)

.

16. **Bioquímica clínica**, 2014. (Oficina)

.

17. **Eixo temático Natureza e Cultura**, 2014. (Exposição)
Natureza, ambiente e cultura.

18. **Minicurso Bioquímica clínica**, 2014. (Oficina)

.

19. **Pense verde para decorar**, 2014. (Oficina)

.

20. **XIII Semana do Biólogo**, 2014. (Encontro)

.

Organização de evento

1. NAPOLEAO, T. H.; **SILVA, S. P.**

III Simpósio de Proteínas Bioativas, 2021. (Outro, Organização de evento)

2. **SILVA, S. P.**; NAPOLEAO, T. H.

II Simpósio de Proteínas Bioativas, 2020. (Outro, Organização de evento)

3. SILVA, S. P.; AMORIM, P. K.; NAPOLEÃO, THIAGO HENRIQUE; **DA SILVA, SUÉLLEN PEDROSA**

I Simpósio de Proteínas Bioativas, 2019. (Outro, Organização de evento)

4. **SILVA, S. P.**

Semana nacional de Ciências e Tecnologia, 2018. (Feira, Organização de evento)

Participação em banca de trabalhos de conclusão

Graduação

1. NAPOLEAO, T. H.; Silva, L.LS; **SILVA, S. P.**

Participação em banca de Wênio Sandoval Filho Lima Da Silva. **AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE LECTINA DE RAIZ DE Portulaca elatior FRENTE A ISOLADOS BACTERIANOS MULTIRRESISTENTES.**, 2020

(Ciências Biológicas) Universidade Federal de Pernambuco

Participação em banca de comissões julgadoras

Avaliação de cursos

1. II Mostra de Microbiologia, 2018

Universidade Federal de Pernambuco

1. Avaliadora no I simpósio de proteínas bioativas, 2019

Universidade Federal de Pernambuco

2. Centro de Iniciação científica do Colégio Santa Maria, 2018

Colégio Santa Maria

3. Feira Ciência Jovem, 2018

4. Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão - Jepex presencial, 2018

Universidade Federal Rural de Pernambuco

5. Centro de Iniciação científica do Colégio Santa Maria, 2017

Colégio Santa Maria