



AValiação *in vitro* DE LIGNINAS ALCALINAS COM ATIVIDADES IMUNOMODULADORA, ANTITUMORAL, ANTIMICROBIANA E ANTIPARASITÁRIA OBTIDA DE *Morinda citrifolia*: UMA REVISÃO DE LITERATURA

Arthur Félix Freire da Silva¹, Josué Filipe de Oliveira Moraes Miranda¹, Carolina Ávila dos Anjos Santos¹, Denilson José Nogueira Correia Filho¹, Wagner Miguel dos Santos Silva¹, Iranildo José da Cruz Filho¹

¹Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil (arthur.felixs@ufpe.br)

Resumo: A lignina é uma macromolécula que compõe a parede celular secundária dos vegetais. Nesse contexto, o trabalho busca identificar as recentes contribuições científicas da lignina isolada de *Morinda citrifolia*. Pesquisas foram feitas em bases de dados, em que usou-se descritores de inclusão e exclusão. Os resultados mostraram que lignina tem atividades biológicas imunomoduladora, antitumoral, antimicrobiana e antiparasitária. Portanto, o estudo reforça sua importância como potencial farmacológico.

Palavras-chave: Macromoléculas; Aplicações farmacêuticas; Atividades biológicas; Química medicinal; Inovação terapêutica.

INTRODUÇÃO

As ligninas, posteriormente à celulose, são as biomacromoléculas mais abundantes na natureza e são consideradas a principal fonte de fenóis naturais (Shorey et al., 2024). Além disso, possuem como característica serem amorfas e polifenólicas, com estruturas tridimensionais complexas, encontradas nas paredes celulares das plantas, associadas à celulose e a diversos polissacarídeos (Mennani et al., 2024). Como também, têm papel central em fornecer rigidez e resistência à parede celular, facilitar o transporte de água e nutrientes, além de promover proteção contra o estresse bioquímico e a degradação microbiana (Österberg et al., 2020).

No contexto químico, essa classe de biomacromoléculas é constituída de distintos grupos funcionais, assim nomeados: hidroxila alifática, carbonila, hidroxila fenólica, metoxila e álcool benzílico (Österberg et al., 2020).

Biossinteticamente, lignina é feita através de polimerização desidrogenativa, envolvendo os precursores primários, álcool trans-coniferílico, álcool trans-sinapílico e álcool trans-*p*-cumarílico, gerando as unidades fenilpropanóides: guaiacil (G), siringil (S) e *p*-hidroxifenil (H) respectivamente, que são ligados entre si por diferentes ligações, incluindo: β -O-4, β -1, β -4, β - β , 5-5 e 4-O-5 (Österberg et al., 2020).

Por outro lado, de modo histórico, essas macromoléculas fenólicas são obtidas como um coproduto das indústrias de celulose e papel, em uma

forma chamada licor negro, abastado em lignina (Pola et al., 2022). No passado, a lignina era utilizada como fonte de energia por ser queimada em caldeira, porém, estudos foram desenvolvidos para a utilização desta macromolécula como um produto de alto valor agregado (Österberg et al., 2020).

Portanto, com base no exposto, vê-se sua considerável relevância para a pesquisa científica, devido seus potenciais farmacêutico e biomédico, à sua versatilidade, biocompatibilidade, biodegradabilidade e por ter natureza polifuncional (Domínguez-Robles et al., 2020 & Jedrzejczak et al., 2021). Por isso, faz-se fundamental a busca por novas ligninas vegetais que ampliem a expressão de atividades biológicas com finalidade terapêutica.

De acordo com Assi et al. (2017), *Morinda citrifolia*, comumente conhecida como Noni, é uma planta pertencente à família Rubiaceae. Bem como, promove diversas propriedades farmacológicas, que são documentadas, exemplarmente, em estudos recentes de Torres et al. (2017), Silva et al. (2021) e Cruz Filho et al. (2023), entre alguns outros.

Nesse contexto, em face à carência de estudos na descoberta de plantas medicinais, oriundas de espécies vegetais brasileiras, esta revisão de literatura busca identificar as mais recentes contribuições científicas, na área química, sobre *Morinda citrifolia*, com o fito, de promover uma bioeconomia a partir de subprodutos sustentáveis a serem utilizados em formulações cosméticas e farmacêuticas.

MATERIAL E MÉTODOS

A revisão de literatura foi realizada com pesquisas em base de dados científicos indexados: Scopus, Science Direct, Web of Science, e Periódicos CAPES.

Ademais, foram aplicados filtros de exclusão que correspondem a estudos datados de 2012 até 2025, isto é, foram removidos os trabalhos a margem do período cronológico determinado.

Sob outro aspecto, os filtros de inclusão reuniam artigos científicos publicados em periódicos, teses, dissertações, capítulos de livro e outras revisões, sejam de línguas inglesa ou portuguesa, que continham como descritores “Alkaline lignins” e “*Morinda citrifolia*”.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram obtidos 50 trabalhos, somados os conteúdos das bases científicas, todavia apenas 17 se relacionavam estritamente com o tema.

Os resultados, obtidos por Cruz Filho et al. (2023), mostraram que lignina não promoveu a morte celular dos esplenócitos, ou seja, apresentou viabilidade celular superior a 95%, como também, foi capaz de ter proliferação celular nas diferentes concentrações testadas (Figura 1). Nesse sentido, há estudos na literatura que corroboram o exposto ao denotar dados semelhantes.

Em acréscimo, observou-se que nenhuma das concentrações avaliadas foi citotóxica, e a concentração 12,5 µg/mL é tradicionalmente usada para estudos de citocinas e óxido nítrico promovidos por distintas ligninas. Assim sendo, o estudo de Cruz Filho et al. (2023) expôs as taxas de produção de citocinas e óxido nítrico de *Morinda citrifolia* (Tabela 1).

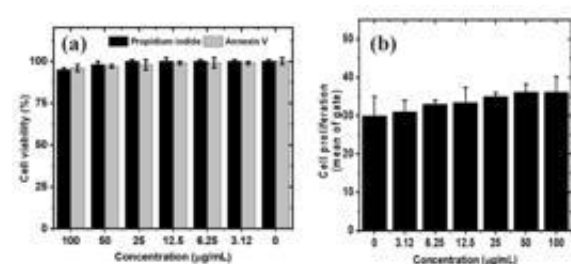


Figura 1. Resultados da viabilidade promovida pela lignina contra células de esplenócitos, avaliados por coloração com iodeto de propídio e anexina (a) e proliferação celular (b), respectivamente. Fonte: Cruz Filho et al. (2023).

Outrossim vale destacar que a lignina, desse mesmo trabalho, induziu aumento na maioria das citocinas anti-inflamatórias (perfil Th2), como as citocinas IL-4, IL-10 e IL-6. Como também, observou-se aumento na produção de IL-2. Nesse viés, o perfil anti-

inflamatório é confirmado, pois a biomacromolécula em questão inibe a produção de óxido nítrico por células tratadas com lignina na concentração de 12,5 µg/mL.

O mecanismo de atividade imunomoduladora promovida pelas ligninas não está totalmente elucidado. Porém, as diferentes atividades biológicas descobertas estão diretamente associadas à estrutura química das ligninas, portanto, diferentes ligninas podem apresentar atividades biológicas variadas (Zhu et al., 2023). Atrelado a isso, estão diversos os diversos grupos funcionais supracitados que podem ser reconhecidos por receptores celulares, o que pode promover diferentes respostas imunes in vitro (Arruda et al. 2021).

Tabela 1. Média ± desvio padrão. Produção de citocinas e óxido nítrico estimulada por lignina alcalina de *Morinda citrifolia* na concentração de 12,5 µg/mL durante 24 horas de incubação dos esplenócitos. Fonte: Cruz Filho et al. (2023).

Cytokines (pg/mL)	Control	Lignin
IL-2	9.45 ± 0.1	10.59 ± 0.5
IL-4	8.97 ± 0.9	10.24 ± 0.8
IL-6	10.98 ± 0.1	12.76 ± 0.2
IL-10	11.91 ± 0.2	13.98 ± 0.0
IL-17	6.81 ± 0.1	6.84 ± 0.9
TNF-α	5.98 ± 0.5	5.92 ± 0.1
IFN-γ	8.34 ± 0.0	8.30 ± 0.1
Nitric oxide (µg/mL)	0.09 ± 0.0	0.03 ± 0.0

No tocante aos níveis de espécies reativas de oxigênio (ERO) citosólico e mitocondrial e cálcio citosólico, a lignina não foi capaz de promover aumento significativo. Não obstante, teve uma diminuição no potencial de membrana das mitocôndrias (Figura 2).

Finalmente, a partir do ensaio de imunofenotipagem de linfócitos e monócitos demonstrou que a lignina promoveu a proliferação e ativação de células TCD8+, com diferença não significativa na ativação de linfócitos TCD4+ e C16+. Em relação aos monócitos, não houve estímulo para diferenciação.

Um aumento na população de TCD8+ exerce papel importante na resposta imunológica frente a ambientes tumorais. Desse modo, levando em conta os estudos com atividades antitumorais podem ser capazes de promover o aumento das células TCD8+.

Portanto, tendo em vista o exposto, esses achados demonstram que as ligninas são agentes imunomoduladores promissores.

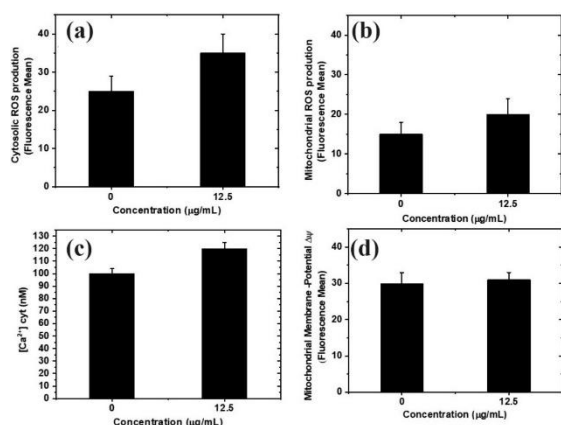


Figura 2. Níveis citosólicos (a) e mitocondriais (b) de espécies reativas de oxigênio (ROS), liberação de cálcio (c) e potencial de membrana mitocondrial ($\Delta\Psi$) (d), respectivamente. Fonte: Cruz Filho et al. (2023).

Em outra abordagem, com base na literatura, as ligninas são descritas como expondo atividade antitumoral in vitro, devido à sua natureza fenólica (Cruz Filho et al., 2023).

Em adição, apresenta citotoxicidade apenas contra células tumorais (Tabela 2), o que fortalece seu potencial in vitro como agente antitumoral. Sendo assim, esses resultados corroboram àqueles obtidos na atividade imunomoduladoras, em que há produção de citocinas anti-inflamatórias e maior número de linfócitos TCD8+, estas são basilares no enfrentamento à expansão de tumores.

Tabela 2. Média $\pm$ desvio padrão. Ensaios de atividade antitumoral in vitro promovidos por ligninas comparados a diferentes padrões. Fonte: Cruz Filho et al. (2023).

Cytokines (pg/mL)	Control	Lignin
IL-2	9.45 $\pm$ 0.1	10.59 $\pm$ 0.5
IL-4	8.97 $\pm$ 0.9	10.24 $\pm$ 0.8
IL-6	10.98 $\pm$ 0.1	12.76 $\pm$ 0.2
IL-10	11.91 $\pm$ 0.2	13.98 $\pm$ 0.0
IL-17	6.81 $\pm$ 0.1	6.84 $\pm$ 0.9
TNF- α	5.98 $\pm$ 0.5	5.92 $\pm$ 0.1
IFN- γ	8.34 $\pm$ 0.0	8.30 $\pm$ 0.1
Nitric oxide (µg/mL)	0.09 $\pm$ 0.0	0.03 $\pm$ 0.0

Em outro âmbito, as ligninas são descritas com atividade antimicrobiana in vitro (Cruz Filho et al., 2023 & Melo et al., 2020 & Araujo et al., 2022).

Os resultados dos testes realizados, por Cruz Filho et al. (2023), demonstraram que a lignina avaliada foi capaz de promover atividade antimicrobiana, apresentando concentração inibitória mínima (CIM) de 512 µg/mL para *Staphylococcus aureus* UFPEDA-709 (com o mesmo valor de CIM quando comparado ao antibiótico padrão) e para *Candida albicans* 4664 e *Candida glabrata* UFPEDA-6393. Ademais, nenhuma das ligninas avaliadas apresentou

concentração bactericida ou fungicida mínima (Tabela 3).

A maquinaria antimicrobiana não se encontra completamente esclarecida. No entanto, sabe-se que a presença de ligações duplas C-C nas posições α e β da cadeia lateral e um grupo metil na posição γ promovem maior inibição do crescimento microbiano quando comparadas aos grupos funcionais contendo oxigênio ($-\text{OH}$, $-\text{CO}$, COOH) na cadeia lateral de ligninas (Melo et al., 2020 & Araujo et al., 2022).

Tabela 3. MIC – Minimum inhibitory concentration; MBC – Minimum bactericidal concentration; MFC – Minimum fungicidal concentration; R – Resistant; S – Sensitive; I – Intermediate resistance; Amp.+Sulbac – Ampicillin+Sulbactam. Resultados da atividade antimicrobiana in vitro promovida pela lignina das folhas de *Morinda citrifolia*. Fonte: Cruz Filho et al. (2023).

Microorganisms	Lignin	Control - antimicrobial
Bacteria	MIC (µg/mL)	MBC (µg/mL)
<i>Enterococcus faecalis</i> UFPEDA-69	> 1024	> 1024
<i>Enterococcus faecalis</i> UFPEDA-138	> 1024	> 1024
<i>Staphylococcus aureus</i> UFPEDA-709	512	> 1024
<i>Acinetobacter baumannii</i> UFPEDA-1024	> 1024	> 1024
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> UFPEDA-261	> 1024	> 1024
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> UFPEDA-416	> 1024	> 1024
Yeasts	MIC (µg/mL)	MFC (µg/mL)
<i>Candida albicans</i> UFPEDA-1007	> 1024	> 1024
<i>Candida albicans</i> 95	> 1024	> 1024
<i>Candida albicans</i> 4664	512	> 1024
<i>Candida glabrata</i> UFPEDA-6393	512	> 1024
<i>Candida guilliermondii</i> UFPEDA-6390	> 1024	> 1024
Cytokines (pg/mL)	Control	Lignin
IL-2	9.45 $\pm$ 0.1	10.59 $\pm$ 0.5
IL-4	8.97 $\pm$ 0.9	10.24 $\pm$ 0.8
IL-6	10.98 $\pm$ 0.1	12.76 $\pm$ 0.2
IL-10	11.91 $\pm$ 0.2	13.98 $\pm$ 0.0
IL-17	6.81 $\pm$ 0.1	6.84 $\pm$ 0.9
TNF- α	5.98 $\pm$ 0.5	5.92 $\pm$ 0.1
IFN- γ	8.34 $\pm$ 0.0	8.30 $\pm$ 0.1
Nitric oxide (µg/mL)	0.09 $\pm$ 0.0	0.03 $\pm$ 0.0

Portanto, esses resultados denotam que as ligninas alcalinas também possuem atividade antimicrobiana.

Por fim, no tocante às propriedades antiparasitárias, especialmente voltadas ao combate da leishmaniose, uma doença inserida no grupo das Doenças Tropicais Negligenciadas, considerada prioritária pela Organização Mundial da Saúde (OMS), foi visto, a partir de resultados de Silva et al. (2021), que a lignina de *Morinda citrifolia* apresentou um CC_{50} de $31,0 \pm 1,10$ µg/mL em teste com macrófagos J774A.1, sendo menos citotóxica que o fármaco padrão para leishmaniose, anfotericina B, que apresentou um valor de CC_{50} de $34,75 \pm 1,4$ µg/mL (Figura 3). Posto isso, infere-se que esta macromolécula promove efeitos citotóxicos significativos apenas em concentrações muito elevadas.



Em segundo plano, há um fator determinante na sobrevivência do parasito *Leishmania amazonensis* dentro do hospedeiro vertebrado, pois ocorre diferenciação celular no ciclo evolutivo (formas procíclicas para metacíclicas), onde esta última se encontra na fase mais infectiva (Soares et al., 2012 & Paiva; Careta, 2019 & Pereira et al., 2020).

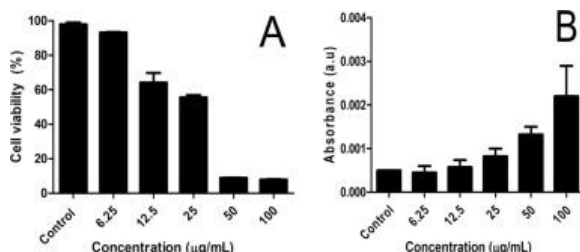


Figura 3. Viabilidade celular avaliada pelo método MTT em macrófagos da linhagem J774 tratados com diferentes concentrações de ligninas (A) e produção de óxido nítrico durante o ensaio (B). Fonte: Silva et al. (2021).

A curva de crescimento de *Leishmania amazonensis* mostrou que em até 72 h as formas promastigotas estavam na fase estacionária de crescimento. Já os resultados da inibição da forma promastigota, apresentaram um IC_{50} de $29,56 \pm 0,6 \mu\text{g/mL}$ para lignina, com inibição máxima equivalente a 37%, enquanto a Anfotericina B apresenta um IC_{50} de $0,14 \pm 0,0 \mu\text{g/mL}$, já os índices de seletividade foram de 1,05 para a lignina e 248,2 para a Anfotericina B (Figura 4).

A lignina é uma macromolécula muito maior que a Anfotericina, então é possível que ela também pode ter um mecanismo de ação na membrana plasmática e, devido à variedade de grupos, pode se ligar de várias maneiras na membrana, promovendo assim a morte celular (Silva et al., 2021).

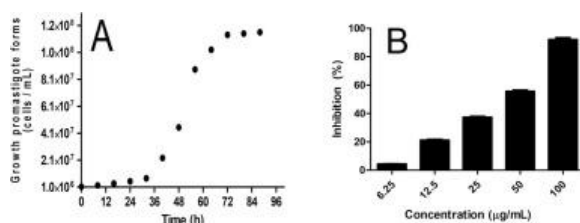


Figura 4. Curva de crescimento da forma promastigota de *Leishmania amazonensis* em meio de Schneider por um período de 96 h (A). Inibição de formas promastigotas em diferentes concentrações de lignina (B).. Fonte: Silva et al. (2021).

CONCLUSÃO

As ligninas isoladas das folhas da *Morinda citrifolia* demonstraram amplos potenciais de atividades biológicas incluindo imunomoduladoras, antitumorais, antimicrobianas e antiparasitárias.

Embora, seus mecanismos de ação não estejam totalmente elucidados, sabe-se que a estrutura química modula os distintos resultados apresentados.

Os potenciais promissores dessa classe de biomacromoléculas revelam que a mesma pode ser utilizada como matéria-prima voltada à obtenção de produtos de alto valor agregado, desde fármacos até formulações cosméticas. Nesse contexto, as aplicações tecnológicas supracitadas podem, no futuro, embasar um ciclo bioeconômico sustentável que gere vultuosos lucros para a indústria nacional.

AGRADECIMENTOS

Laboratório de Química e Inovação Terapêutica - LQIT

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, Denise Maria Figueiredo et al. Biological activities and physicochemical characterization of alkaline lignins obtained from branches and leaves of *Buchenavia viridiflora* with potential pharmaceutical and biomedical applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, volume 219, páginas 224-245, 2022.
- ARRUDA, Marcela Daniela Muniz et al. Characterization of a lignin from *Crataeva tapia* leaves and potential applications in medicinal and cosmetic formulations. *International Journal of Biological Macromolecules*, volume 180, páginas 286-298 2021.
- ASSI, Reem Abou et al. *Morinda citrifolia* (Noni): A comprehensive review on its industrial uses, pharmacological activities, and clinical trials. *Arabian Journal of Chemistry*, volume 10, páginas 691-707, 2017.
- CRUZ FILHO, Iranildo J. et al. Alkaline lignins from *Morinda citrifolia* leaves are potential immunomodulatory, antitumor, and antimicrobial agents. *Anais Da Academia Brasileira De Ciências*, 95, 2023.
- DOMÍNGUEZ-ROBLES, Juan et al. Lignin for pharmaceutical and biomedical applications – Could this become a reality?, *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, volume 18, 2020.
- JĘDRZEJCZAK, Patryk et al. The role of lignin and lignin-based materials in sustainable construction – A comprehensive review. *International Journal of Biological Macromolecules*, volume 187, 2021.
- MELO, Cristiane Moutinho Lagos de et al. Lignin isolated from *Caesalpinia pulcherrima* leaves has antioxidant, antifungal and immunostimulatory activities. *International Journal of Biological Macromolecules*, volume 162, páginas 1725-1733, 2020.



MENNANI, Mehdi et al. The potential of lignin-functionalized metal catalysts - A systematic review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, volume 189, 2024.

ÖSTERBERG, Monika et al. Spherical lignin particles: a review on their sustainability and applications. *Green Chemistry*, 22, páginas 2712-2733, 2020.

PAIVA, V. C. F.; CARETA, F. P. Comparison of the growth of promastigotes cellular lineages of *Leishmania amazonensis* by the sequential adaptation of Schneider's insect for RPMI 1640 medium culture. *Scientific Electronic Archives*, volume 12, 2019.

PEREIRA, Katily L. G. et al. Ethanolic extract of *Croton blanchetianus* Ball induces mitochondrial defects in *Leishmania amazonensis* promastigotes. *Anais Da Academia Brasileira De Ciências*, 92, 2020.

POLA, Lucía et al. Kraft black liquor as a renewable source of value-added Chemicals. *Chemical Engineering Journal*, volume 448, 2022.

SHOREY, Rohan et al. Valorization of lignin for advanced material applications: a review. *RSC Sustainability*, 2, páginas 804-831, 2024.

SILVA, Paula Roberta da et al. Lignin from *Morinda citrifolia* leaves: Physical and chemical characterization, in vitro evaluation of antioxidant, cytotoxic, antiparasitic and ultrastructural activities. *International Journal of Biological Macromolecules*, volume 193, páginas 1799-1812, 2021.

SOARES, Deivid Costa et al. Dolabelladienetriol, a Compound from *Dictyota paffii* Algae, Inhibits the Infection by *Leishmania amazonensis*. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2012.

TORRES, Mylena Andréa Oliveira et al. One Plant, Many Uses: A Review of the Pharmacological Applications of *Morinda citrifolia*. *Phytotherapy Research*, volume 31, páginas 971-979, 2017.

ZHU, Guozhi et al. Lignin-derived polyphenols with enhanced antioxidant activities by chemical demethylation and their structure-activity relationship. *International Journal of Biological Macromolecules*, volume 237, 2023.