Ana Maria Pereira Barreto Amorim

Estudo de antioxidantes, potencial bioativo e composição química de *Chnoospora minima*, *Dictyopteris plagiogramma*, *Padina gymnospora*, *Sargassum cymosum* (Ochrophyta) e *Codium isthmocladum* (Chlorophyta)

Study of antioxidants, bioactive potential and chemical composition of *Chnoospora minima*, *Dictyopteris plagiogramma*, *Padina gymnospora*, *Sargassum cymosum* (Ochrophyta) and *Codium isthmocladum* (Chlorophyta)

São Paulo

2018

Ana Maria Pereira Barreto Amorim

Estudo de antioxidantes, potencial bioativo e composição química de *Chnoospora minima*, *Dictyopteris plagiogramma*, *Padina gymnospora*, *Sargassum cymosum* (Ochrophyta) e *Codium isthmocladum* (Chlorophyta)

Study of antioxidants, bioactive potential and chemical composition of *Chnoospora minima*, *Dictyopteris plagiogramma*, *Padina gymnospora*, *Sargassum cymosum* (Ochrophyta) and *Codium isthmocladum* (Chlorophyta)

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, para a obtenção de Título de Mestre em Ciências Biológicas, na Área de Botânica.

Orientadora: Profa. Dra. Fungyi Chow

São Paulo

2018

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada pelo Serviço de Biblioteca do Instituto de Biociências da USP,
com os dados fornecidos pelo autor no formulário:

<http://www.ib.usp.br/biblioteca/ficha-catalografica/ficha.php>

Amorim, Ana Maria Pereira Barreto

Estudo de antioxidantes, potencial bioativo e
composição química de *Chnoospora minima*, *Dictyopteris*
plagiogramma, *Padina gymnospora*, *Sargassum cymosum*
(Ochrophyta) e *Codium isthmocladum* (Chlorophyta) / Ana
Maria Pereira Barreto Amorim; orientadora Fungyi Chow. -
São Paulo, 2018.

122 f. + anexo

Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biociências da
Universidade de São Paulo, Departamento de Botânica.

1. Atividades biológicas. 2. Antioxidante. 3.
Prospecção. 4. Algas pardas. 5. Alga verde. I. Chow,
Fungyi, orient. II. Título.

Bibliotecária responsável pela estrutura da catalogação da publicação:
Elisabete da Cruz Neves - CRB - 8/6228

Comissão Julgadora:

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Profa. Dra. Fungyi Chow

Orientadora

Introdução Geral

1 PRODUTOS NATURAIS DE MACROALGAS

As macroalgas são divididas em três grandes grupos: algas vermelhas (Filo Rhodophyta), algas pardas (Filo Ochrophyta – Classe Phaeophyceae) e algas verdes (Filo Chlorophyta). A maioria de seus representantes habita o ecossistema marinho e constitui parte fundamental desse ambiente, destacando-se principalmente seu papel na cadeia alimentar e como produtor primário, servindo de local de refúgio, recrutamento e berçário, fonte de matéria orgânica para bactérias heterotróficas e indicadores de alterações ambientais (Yoneshigue-Valentin et al. 2006).

Tradicionalmente, são utilizadas na alimentação, sobretudo em países asiáticos, e, atualmente, têm sido exploradas como alimentos funcionais, devido ao seu teor de fibras, vitaminas e minerais (MacArtain et al. 2007). Industrialmente, são utilizadas, principalmente, como fonte de ágar, carragenanas e alginato, polissacarídeos presentes na parede celular de algumas macroalgas (Hu et al. 2011). Além disso, são fonte de produtos naturais que apresentam atividades biológicas, as quais podem ser aplicadas na indústria química, farmacêutica e cosmética (Kolanjinathan et al. 2014).

Produtos naturais são substâncias produzidas por organismos, as quais são provenientes dos metabolismos primário ou secundário (Fig. 1). Contudo, a maioria dos produtos naturais com potencial biotecnológico são oriundos do metabolismo secundário (Clardy e Walsh 2004), e alguns trabalhos referem-se aos produtos naturais como sinônimo de metabólito secundário (Amsler e Fairhead 2006, Leal et al 2013).

O metabolismo primário (Fig. 1) é o conjunto de reações envolvidas diretamente nos processos de crescimento, desenvolvimento e reprodução do organismo, como a fotossíntese, ciclo das pentoses, glicólise e ciclo de Krebs. Os metabólitos primários, substâncias originadas nessas reações, apresentam ampla distribuição na natureza, como os aminoácidos, proteínas, lipídeos e carboidratos. O metabolismo secundário (Fig. 1) origina substâncias que atuam como mediadores de interações ecológicas (Smit 2004), metabólitos que ocorrem em grupos específicos de organismos, por isso são também denominados como metabólitos especiais, e apresentam importância ecológica e evolutiva, sendo estudados como marcadores taxonômicos, filogenéticos e biogeográficos. Além disso, são o principal alvo de estudos que envolvem o isolamento e obtenção de novas moléculas com atividade antioxidante e biológica (Maschek e Baker 2008; Teixeira 2013).

As principais rotas secundárias que ocorrem em organismos fotossintetizantes são do ácido chiquímico, do acetato-malonato, do ácido mevalônico (MEV) e do metileritritol fosfato (MEP), as quais apresentam como precursores substâncias provenientes do metabolismo primário (Clardy e Walsh 2004, Dewick 2009). A partir dessas rotas são originadas as três principais classes de metabólitos secundários: terpenos, substâncias fenólicas e substâncias nitrogenadas (Dewick 2009).

Figura 1: Esquema com as principais rotas do metabolismo primário (caixas em cinza) e do metabolismo secundário (caixas em branco), indicando a síntese de classes químicas prevalentes. Baseado em Dewick (2009).

Os oceanos constituem uma importante fonte de produtos naturais (Hu et al. 2011; Blunt et al. 2014). Cerca de 20.000 compostos foram descobertos em organismos marinhos e quase 3.000 são provenientes de macroalgas (Maschek e Baker 2008; Hu et al. 2011).

As algas vermelhas possuem cerca de 1500 metabólitos secundários relatados, principalmente substâncias halogenadas. As substâncias halogenadas apresentam pelo menos um átomo de halogênio, sendo o bromo o mais frequente em algas. Essas substâncias pertencem a diferentes classes químicas, como acetogeninas, terpenos e substâncias fenólicas (Carvalho e Roque 2000). Em algas vermelhas, as substâncias halogenadas representam 70% dos metabólitos secundários. Em contrapartida, apenas 11% e 4% das substâncias de algas verdes e pardas, respectivamente, são halogenadas (Young et al. 2015).

Em algas pardas foram encontrados cerca de 1140 metabólitos secundários, dos quais a maioria faz parte das classes dos terpenos e das substâncias fenólicas (Maschek e Baker 2008; Blunt et al. 2014). Os terpenos de algas pardas são representados principalmente pela fucoxantina, carotenoide (terpeno de 40 carbonos) típico do grupo, e pelos diterpenos (20 carbonos), substâncias típicas do gênero *Dictyota* J.V. Lamouroux. Já as substâncias fenólicas de algas pardas são principalmente florotaninos, polifenóis derivados do floroglucinol (1,3,5-tri-hidroxibenzeno) e que representam de 10% a 20% o peso seco dessas algas (Ragan e Glombitza 1986).

Nas algas verdes são conhecidos aproximadamente 300 metabólitos secundários, principalmente da classe dos terpenos (Maschek e Baker 2008). Os produtos naturais de algas verdes são representados principalmente por sesquiterpenos (15 carbonos) e diterpenos (20 carbonos), e quase metade dessas substâncias são encontradas na Ordem Bryopsidales. No entanto, existem poucos estudos sobre produtos naturais de algas verdes.

As acetogeninas são substâncias derivadas de ácidos graxos e biossintetizadas pela via do acetato malonato (Alali et al. 1999, Young et al. 1999). São formadas por unidades repetidas de acetato (C₂) e anel γ -lactônico terminal, além disso podem apresentar anéis tetrahidrofuranos (THF) ou tetrahidropiranos (THP), e grupos funcionais halogenados (Alali et al. 1999, Wanke et al. 2015, Young et al. 2015). A maioria das acetogeninas encontradas em algas vermelhas são cíclicas e apresentam 15 carbonos (C₁₅), sendo derivadas de ácidos graxos.

Os terpenos são biossintetizados a partir da acetilcoenzima A (acetil-CoA) e de outros intermediários glicolíticos, por meio de duas rotas metabólicas: do MEV e do MEP (Fig. 1). Os terpenos são formados por unidades de cinco carbonos (chamadas de isopreno) e são classificados de acordo com o número de unidades de isopreno (Taiz & Zeiger 2006). Os carotenoides, pigmentos presentes em todos os organismos fotossintetizantes, possuem oito unidades de isopreno (40 carbonos), sendo classificados como tetraterpenos.

As substâncias fenólicas apresentam um grupo fenol (um anel aromático ligado a uma hidroxila), e são formados por duas rotas metabólicas: do ácido chiquímico e do acetato malonato (Taiz e Zeiger 2006) (Fig. 1). Os florotaninos, encontrados em algas pardas, são policetídeos aromáticos, biossintetizados pela via do acetato malonato (Koivikko et al. 2007).

Dentre esta vasta diversidade de produtos naturais de macroalgas, vários estudos descrevem o potencial antioxidante e a sua ampla atividade biológica em extratos e isolados de diferentes espécies, justificando o crescente investimento no conhecimento da potencialidade destas algas como fontes de novos produtos naturais.

A seguir, serão abordados aspectos sobre ação antioxidante e atividade biológica de algas pardas e algas verdes, visto que representam o foco deste estudo.

2 POTENCIAL ANTIOXIDANTE

Fatores como luz, calor, radiação e ataque químico ou biológico, podem fornecer energia para o rompimento de ligações químicas de polímeros. Isso leva à geração de espécies reativas e de novas espécies reativas (Paoli 2008), responsáveis pela propagação do processo, causando estresse e dano oxidativo, que é a degradação de moléculas orgânicas pela produção excessiva de espécies reativas ou pela deficiência dos mecanismos antioxidantes (Ferreira & Matsubara 1997). As espécies reativas em baixos níveis participam de diversos processos metabólicos, porém em altas concentrações, por exemplo, sob condições de estresse, frequentemente resultam em dano oxidativo. As espécies reativas correspondem a moléculas altamente instáveis e capazes de oxidar moléculas orgânicas (Ferreira & Matsubara 1997). Muitas vezes são radicais livres com elétrons desemparelhados em sua camada de valência.

A oxidação de moléculas orgânicas, em especial a oxidação lipídica, é o principal mecanismo de redução do tempo de prateleira de alimentos, medicamentos e cosméticos, pois alteram a cor, o odor e o sabor desses produtos (Degáspari e Waszczynskyj 2004; Chorilli et al. 2007). Além disso, a oxidação lipídica pode alterar a qualidade nutricional de alimentos e levar à formação de moléculas potencialmente tóxicas (Ramalho e Jorge 2006).

O principal mecanismo de oxidação lipídica é auto-oxidação. Na presença de luz e calor, um hidrogênio é retirado de moléculas de ácidos graxos, gerando radicais livres. Esses radicais reagem com o oxigênio atmosférico e formam novos radicais livres, os quais propagam a reação de oxidação. Por fim, dois radicais se combinam, formando produtos estáveis.

Para retardar ou evitar a oxidação lipídica, substâncias antioxidantes podem ser empregadas nos produtos alimentícios, farmacêuticos e cosméticos (Ramalho e Jorge 2006; Chorilli et al. 2007). Segundo Sies (1993), as substâncias antioxidantes são capazes de atrasar ou inibir taxas de oxidação, e com isso inibem espécies reativas e radicais livres.

As substâncias antioxidantes empregadas industrialmente podem ser divididas em dois grupos: os antioxidantes primários, que interrompem a propagação das reações de oxidação, ao ceder um próton e estabilizar os radicais livres; e os antioxidantes secundários, que reduzem o processo de iniciação da oxidação lipídica. Os antioxidantes secundários apresentam diferentes mecanismos de atuação, como por exemplo, a quelatação de metais, pois os metais de transição são capazes de catalisar reações de oxidação (Gordon 1990).

Independente do mecanismo de ação, os antioxidantes utilizados em alimentos, medicamentos e cosméticos não devem causar efeitos fisiológicos negativos, não podem alterar

características do produto (cor, sabor, odor, etc) e devem ser eficazes em baixas concentrações (0,001 – 0,01%) (Ramalho e Jorge 2006).

Os antioxidantes empregados nas indústrias podem ter origem sintética ou natural. Os antioxidantes sintéticos mais utilizados são o butil-hidroxianisol (BHA), o butil-hidroxitolueno (BHT), o propil galato (PG) e o terc-butilhidroquinona (TBHQ). No entanto, essas substâncias são pouco estáveis a altas temperaturas, e podem causar efeitos carcinogênicos e alterações enzimáticas em animais (Andreo e Jorge 2006; Rocha et al. 2007). Por esses motivos, pesquisas têm sido realizadas com o intuito de encontrar fontes de antioxidantes naturais (Soares 2002). Nesse sentido, as macroalgas têm-se mostrado uma fonte promissora (Rocha et al. 2007).

Em macroalgas, assim como em outros organismos aeróbios, são encontradas espécies reativas, produzidas durante os processos de respiração celular e fotossíntese. Nas células, essas espécies reativas podem oxidar moléculas orgânicas, como lipídeos, proteínas, carboidratos e DNA, e por esse motivo, estão associadas ao envelhecimento celular (Ferreira e Matsubara 1997). Para combater os efeitos das espécies reativas, os organismos desenvolveram mecanismos antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos. O mecanismo antioxidante enzimático inclui a superóxido dismutase, a peroxidase, a catalase e a glutathione redutase, já o mecanismo não enzimático inclui substâncias como o ácido ascórbico, carotenoides, substâncias fenólicas e tocoferóis (Mallick e Mohn 2000).

Fatores externos também podem estimular a produção de espécies reativas (Mallick e Mohn 2000). Como o ambiente aquático está sujeito à variação de nutrientes, luminosidade, radiação, concentração de CO₂ e O₂, temperatura e salinidade, as macroalgas estão propensas a sofrer com o estresse oxidativo (Stengel et al. 2011). Desse modo, para garantir sua sobrevivência, as macroalgas desenvolveram mecanismos eficientes de resposta ao estresse, apresentando uma alta capacidade antioxidante (Rocha et al. 2007; Cofrades et al. 2010).

Zubia et al. (2007) analisaram substâncias fenólicas totais e avaliaram a atividade antioxidante de 48 espécies de macroalgas (17 Chlorophyta; 8 Ochrophyta; 23 Rhodophyta) pelo método de captura do radical DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). Os autores verificaram que todas as espécies testadas apresentaram atividade antioxidante, e as mais ativas foram a alga parda, *Lobophora variegata* (J.V. Lamouroux) Womersley ex E.C. Oliveira, e a alga verde *Avrainvillea longicaulis* (Kützinger) G. Murray & Boodle, com atividades comparáveis à antioxidantes comerciais. *Lobophora variegata* apresentou também a maior concentração de substâncias fenólicas totais entre todas as espécies estudadas, sugerindo que a atividade antioxidante encontrada nessa alga pode estar relacionada às substâncias fenólicas. De acordo com Rocha et al.

(2007), a alta atividade antioxidante encontrada em algas pardas está relacionada a substâncias fenólicas.

Shibata et al. (2008) testaram a atividade antioxidante de florotaninos isolados de três espécies de algas pardas, *Eisenia bicyclis* (Kjellman) Setchell, *Ecklonia cava* Kjellman e *Ecklonia kurome* Okamura, pelos métodos de captura do ânion superóxido e de captura do radical DPPH. Os florotaninos florofucofuroeckol A, dieckol e 8,8'-bieckol apresentaram alta atividade antioxidante, superior ao ácido ascórbico e ao α -tocoferol (vitamina E), em ambos os métodos.

Clorofila e carotenoides também são compostos relacionados à atividade antioxidante em macroalgas. Em algas pardas, Yan et al. (1999) atribuíram a alta atividade de redução do radical DPPH, encontrada na alga parda *Hijikia fusiformis* (Harvey) Okamura, à fucoxantina. Le Tutour et al. (1998), ao estudarem cinco algas pardas, também observaram que a fucoxantina apresentou atividade antioxidante. Além disso, nesse mesmo estudo, verificaram que a clorofila *a* possui sinergia com o α -tocoferol na conservação do ácido linoleico, um ácido graxo insaturado, alvo de espécies reativas.

Raymundo et al. (2004) avaliaram o potencial antioxidante de quatro espécies de algas verdes, coletadas no litoral de Santa Catarina, Brasil, e encontraram alta atividade antioxidante para extratos metanólicos de *Chaetomorpha antennina* (Bory) Kützinger e *Ulva intestinalis* Linnaeus, na inibição da peroxidação lipídica, e relacionam essa atividade à clorofila *a* e carotenoides. Cho et al. 2011 identificaram no extrato metanólico de *Ulva prolifera* O. F. Müller, o feoforbídeo *a*, produto de degradação da clorofila, e relacionaram a alta atividade antioxidante encontrada à essa substância.

Estudos também têm relatado o potencial de polissacarídeos sulfatados de macroalgas como fonte de antioxidantes. Costa et al. (2011) verificaram que a fração de polissacarídeos de algas pardas, do gênero *Dictyota* J. V. Lamouroux e *Sargassum filipendula* C. Agardh, e da alga verde, *Caulerpa sertularioides* (S. G. Gmelin) M. Howe, apresentaram alta atividade antioxidante. Rupérez et al. (2002) relataram que em *Fucus vesiculosus* Linnaeus, a fração de polissacarídeos contendo heterofucanas apresentou boa atividade de redução do íon ferro.

3 POTENCIAL ANTIBACTERIANO E ANTIVIRAL

O uso indiscriminado de medicamentos nos últimos anos levou à crescente resistência de agentes patogênicos. A resistência antimicrobiana é relacionada à capacidade desenvolvida por microrganismos (por exemplo, bactérias, vírus, fungos) de crescerem na presença de medicamentos antimicrobianos, já a resistência à antibióticos está relacionada especificamente às

bactérias (WHO 2017). De acordo com dados da OMS (Organização Mundial da Saúde) para 22 países, *Escherichia coli*, é uma das bactérias mais comumente resistente a antibióticos (WHO 2017). Essa bactéria é encontrada normalmente na flora intestinal de animais, mas também é uma das principais causas de infecções alimentares e doenças do trato urinário.

Outro importante agente patogênico que tem apresentado resistência à antimicrobianos é o Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV, *Human Immunodeficiency Virus*), causador da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS, *Acquired Immunodeficiency Syndrome*). De acordo com a UNAIDS (2016), nos últimos anos houve aumento do acesso a tratamentos antirretrovirais e uma redução das mortes relacionadas a AIDS. No entanto, as altas taxas de mutação do vírus, relacionadas a falta de acesso regular de pacientes a serviços de atenção à saúde, têm aumentado gradualmente a resistência do HIV à antirretrovirais (Gupta et al. 2012), prejudicando o progresso global no tratamento e prevenção da AIDS.

Diante deste cenário, a resistência a antimicrobianos é uma ameaça crescente à saúde pública e estudos têm procurado novas fontes de substâncias para o tratamento de doenças bacterianas e virais (Karaman et al. 2003).

Em algas pardas, a atividade antibacteriana é relacionada às substâncias fenólicas, especialmente aos florotaninos (Maschek e Baker 2008). Extrato metanólico de *Sargassum wightii* Greville ex J. Agardh mostrou alta atividade contra *E. coli* e *Aeromonas hydrophila* (gram-negativo) e os autores sugerem que essa atividade está relacionada à presença de substâncias fenólicas no extrato (Vijayabaskar e Shiyamala 2011).

Eom et al. (2008) verificaram que o extrato metanólico de *Ecklonia stolonifera* Okamura mostrou atividade contra uma cepa de *Staphylococcus aureus* (gram-positivo) resistente ao antibiótico metilicina (MRSA, *Methicillin Resistant Staphylococcus*). Lee et al. (2008) isolaram a partir do extrato metanólico da mesma espécie o florotanino, dieckol, e demonstraram que essa substância possui atividade contra a bactéria MRSA, apresentando concentração inibitória mínima de 64 µg.mL⁻¹.

Os florotaninos também apresentam atividade antiviral e atuam em diferentes fases da infecção, podendo inibir a adsorção, a transcriptase reversa e a transcrição (De Clercq 2000). Ahn et al. (2004) isolaram da macroalga *E. cava* quatro derivados do floroglucinol, dos quais o dieckol e o dieckol inibiram a transcriptase reversa do HIV. Essas substâncias apresentaram capacidade de inibição comparável a nevirapina, um fármaco usado no tratamento da AIDS.

Polissacarídeos sulfatados de macroalgas também possuem atividade antiviral, atuando principalmente como bloqueadores da adsorção do vírus na célula hospedeira (De Clercq 2000). Polissacarídeos sulfatados de algas verdes do gênero *Codium* Stackhouse apresentam atividade

contra o vírus herpes simplex (HSV, *Herpes simplex virus*), atuando principalmente na inibição da adsorção e da penetração na célula hospedeira, mas também podem atuar em fases após a penetração viral (Lee et al. 2004; Ohta et al. 2009).

Como antirretrovirais, polissacarídeos sulfatados podem atuar como inibidores competitivos, impedindo a ligação entre a enzima transcriptase reversa e o iniciador (*primer*) da transcrição reversa (Sosa et al. 1991; Viennois et al. 2013).

Segundo Ahmadi et al. (2015) os polissacarídeos de algas pardas como alginato e fucanas, presentes na parede celular, e a laminarina, polissacarídeo de reserva, apresentam atividade antiviral. No entanto, segundo Damonte et al. (2004), testes *in vitro* têm demonstrado que esses compostos são efetivos quando administrados simultaneamente ou imediatamente após a infecção viral.

Compostos com potencial antiviral devem apresentar baixa citotoxicidade contra células de mamíferos para não afetarem as células do hospedeiro (De Clercq 2000). Ponce et al. (2003) relataram que galactofucanas (fucanas ricas em galactose) de *Adenocystis utricularis* (Bory) Skottsberg (Phaeophyceae), apresentaram atividade antiviral contra os vírus herpes simplex tipo 1 (HSV-1) e tipo 2 (HSV-2) e não demonstraram citotoxicidade contra células da linhagem *Vero*.

4 POTENCIAL ANTITUMORAL

Tumor ou neoplasia se refere ao crescimento anormal de células. Os tumores benignos são localizados e não se espalham para outras partes do corpo, já os tumores malignos (câncer) têm a capacidade de se espalhar para outras regiões além do local de origem (metástase). Câncer é um termo genérico para um grupo de doenças que podem afetar diferentes partes do corpo. De acordo com dados da OMS (WHO 2014), o câncer é uma das principais causas de morte no mundo, em 2012 ocorreram 14,1 milhões de novos casos e 8,2 milhões de óbitos causados por câncer. No Brasil, estima-se que para o ano de 2018 ocorram cerca de 420 mil novos casos (INCA 2017).

O tratamento de câncer é normalmente realizado por cirurgia, radioterapia ou quimioterapia. No tratamento por quimioterapia são aplicadas substâncias que atuam inibindo o crescimento celular. Para a busca de novas fontes de substâncias com potencial antitumoral são empregados ensaios *in vitro* e *in vivo* que visam avaliar a atividade citotóxica de extratos e substâncias isoladas. Em algas pardas e algas verdes, as principais substâncias que apresentam citotoxicidade frente às linhagens de células tumorais são polissacarídeos sulfatados.

Ye et al. (2008) avaliaram o potencial antitumoral de frações purificadas de polissacarídeos sulfatados da espécie *Sargassum pallidum* (Turner) C. Agardh frente às linhagens celulares Hep

G2 (câncer de pulmão), A549 (adenocarcinoma de pulmão) e MGC-803 (câncer gástrico). As frações que apresentaram as maiores atividades de inibição do crescimento das três linhagens celulares têm o maior teor de sulfato e as menores massas moleculares.

Estudos têm demonstrado o potencial antitumoral de fucoidan, um grupo de polissacarídeos sulfatados ricos em L-fucose presente na parede celular de diversas algas pardas (Atashrazm et al. 2015). Por exemplo, fucoidan isolado de *Sargassum polycystum* C. Agardh apresentou IC₅₀ de 50 µg.mL⁻¹ na inibição do crescimento da linhagem celular MCF-7 (câncer de mama), analisada pelo ensaio *in vitro* do MTT (Palanisamy et al. 2017). Nesse estudo os autores também analisaram a morfologia das células tratadas com fucoidan e observaram características de células apoptóticas. De acordo com Atashrazm et al. (2015), fucoidan extraído de diferentes espécies de algas pardas pode promover a morte celular por apoptose, apresentar efeito imunomodulatório, inibir a angiogênese tumoral (formação de novos vasos sanguíneos pelos quais as células tumorais recebem oxigênio e nutrientes) e diminuir a metástase.

Polissacarídeos de algas verdes também apresentam potencial antitumoral, induzindo a morte celular por apoptose. Wang et al. (2014) demonstraram que um polissacarídeo sulfatado isolado da macroalga verde, *U. intestinalis* apresentou atividade antitumoral ao induzir a apoptose em células de hepatoma humano (HepG2).

5 LOCAL DE ESTUDO

A costa do Espírito Santo possui extensão de 411 km, o que corresponde a 5% da costa brasileira (Incaper 2010). Essa região apresenta grande abundância e diversidade de macroalgas marinhas, representando uma zona de transição entre as regiões ficogeográficas brasileiras tropical (oeste do Ceará até sul da Bahia) e temperada quente (norte do Rio de Janeiro até sul do Rio Grande do Sul) (Oliveira Filho 1977; Horta et al. 2001).

A alta diversidade encontrada nesse estado pode estar relacionada à variedade de substratos consolidados e à presença de pontos de afloramento de águas frias (Horta et al. 2001; Guimarães 2003). Segundo Guimarães (2003), na costa do Espírito Santo ocorrem afloramentos da Água Central do Atlântico Sul (ACAS) por períodos curtos e esporádicos, o que possibilita a presença de espécies estenotérmicas (que não toleram grandes variações térmicas) e euriatérmicas (que toleram grandes variações térmicas). Além disso, o afloramento de águas frias aumenta a disponibilidade de nutrientes.

Levantamentos de macroalgas do Espírito Santo encontraram 262 espécies de Rhodophyta (Guimarães 2003), 54 espécies de Ochrophyta (Crispino 2000) e 79 de Chlorophyta (Barata 2004).

Barbosa et al. (2008) encontraram na Praia de Jacaraípe, 34 espécies de Rhodophyta, 4 de Ochrophyta e 12 de Chlorophyta. As espécies de algas pardas mais representativas foram *Padina gymnospora* (Kützinger) Sonder e *Dictyopteris delicatula* J. V Lamouroux. Dentre as espécies de algas verdes as mais representativas foram *Cladophora montagneana* Kützinger, *Cladophora ordinata* (Børgesen) C. Hoek, *Cladophora vagabunda* Linnaeus (Hoek) e *Ulva lactuca* Linnaeus.

Sá (2011), em praias dos municípios de Serra, Vila Velha e Vitória (ES), encontrou 54 espécies de Rhodophyta, 12 de Ochrophyta e 17 de Chlorophyta. Entre as algas pardas, *Sargassum* spp. foi o táxon com maior percentual de cobertura, e entre algas verdes foi *Ulva* spp.

Carvalho (2013), em estudo sobre o impacto da urbanização sobre comunidades de macroalgas no Espírito Santo, identificou 75 espécies de Rhodophyta, 20 de Ochrophyta e 30 de Chlorophyta. Ao comparar áreas urbanizadas e não urbanizadas, o maior número de espécies de Ochrophyta foi encontrado em praias não urbanizadas. Entre algas pardas, as espécies *Colpomenia sinuosa* (Mertens ex Roth) Derbès & Solier e *P. gymnospora* apresentaram os maiores valores de abundância média. *D. delicatula*, apesar de não ter apresentado alta abundância, ocorreu em praias urbanizadas e não urbanizadas, e foi registrada para sete dos nove locais analisados. Dentre as Chlorophyta, o maior número de espécies ocorreu em praias urbanizadas, sendo *U. lactuca* foi a espécie o mais abundante nesse tipo de local. Já *Codium intertextum* Collins & Hervey foi predominante em áreas não urbanizadas.

As espécies de algas pardas e algas verde citadas para o litoral do Espírito Santo (Barata 2004; Barbosa et al. 2008; Sá 2011; Carvalho 2013) estão reunidas na Tabela 1 e na Tabela 2, respectivamente.

Tabela 1: Espécies de algas pardas (Ochrophyta) citadas para o litoral do Espírito Santo (ES), Brasil.

Espécies	Observações	Referências
<i>Bachelotia antillarum</i>		Carvalho (2013)
<i>Canistrocarpus cervicornis</i>		Carvalho (2013)
<i>Chnoospora minima</i>		Sá (2011)
<i>Colpomenia sinuosa</i>	Espécie abundante em praias urbanizadas e não urbanizadas	Sá (2011); Carvalho (2013)
<i>Dictyopteris delicatula</i>		Barbosa et al. (2008); Sá (2011); Carvalho (2013)
<i>Dictyota crenulata</i>		Carvalho (2013)
<i>Dictyota mertensii</i>		Sá (2011)
<i>Feldmania irregularis</i>		Sá (2011); Carvalho (2013)
<i>Hincksia mitchelliae</i>		Sá (2011); Carvalho (2013)
<i>Hincksia onslowensis</i>		Carvalho (2013)
<i>Levringia brasiliensis</i>		Sá (2011)
<i>Lobophora variegata</i>		Carvalho (2013)
<i>Padina gymnospora</i>	Abundante em praias não urbanizadas	Barbosa et al. (2008); Sá (2011); Carvalho (2013)
<i>Sargassum cymosum</i>	Gênero abundante em costões rochosos	Sá (2011); Carvalho (2013)
<i>Sargassum filipendula</i>	Gênero abundante em costões rochosos	Sá (2011)
<i>Sargassum furcatum</i>		Carvalho (2013)
<i>Sargassum polyceratium</i>		Carvalho (2013)
<i>Sargassum rigidulum</i>		Carvalho (2013)
<i>Sargassum stenophyllum</i>		Barbosa et al. (2008); Carvalho (2013)
<i>Sargassum vulgare</i>	Gênero abundante em costões rochosos	Sá (2011); Carvalho (2013)
<i>Sphacelaria tribuloides</i>		Carvalho (2013)
<i>Stynopodium zonale</i>		Carvalho (2013)
<i>Zonaria tournefortii</i>		Sá (2011); Carvalho (2013)

Tabela 2: Espécies de algas verdes (Chlorophyta) citadas para o litoral do Espírito Santo (ES), Brasil.

Espécies	Observações	Referências
<i>Acetabularia</i> cff. <i>pusilla</i>		Barata (2004)
<i>Anadyomene stellata</i>		Barata (2004); Barbosa et al. (2008); Sá (2011); Carvalho (2013)
<i>Avrainvillea longicaulis</i>		Barata (2004)
<i>Boodleopsis pusilla</i>		Barata (2004)
<i>Boodleopsis vaucheroidea</i>		Sá (2011)
<i>Bryopsis hypnoides</i>		Barata (2004)
<i>Bryopsis pennata</i>		Barata (2004); Carvalho (2013)
<i>Bryopsis plumosa</i>		Barata (2004); Carvalho (2013)
<i>Caulerpa cupressoides</i>	Foram encontradas 3 variedades e 2 formas; gênero representativo em matacões sobrepostos	Barata (2004); Barbosa et al. (2008); Sá (2011); Carvalho (2013)
<i>Caulerpa fastigiata</i>		Barata (2004); Sá (2011); Carvalho (2013)
<i>Caulerpa lanuginosa</i>		Barata (2004); Carvalho (2013)
<i>Caulerpa mexicana</i>		Barata (2004); Barbosa et al. (2008)
<i>Caulerpa prolifera</i>		Barata (2004); Barbosa et al. (2008); Carvalho (2013)
<i>Caulerpa pusilla</i>		Barata (2004)
<i>Caulerpa racemosa</i>	Abundante em áreas não urbanizadas; gênero representativo em matacões sobrepostos	Barata (2004); Sá (2011); Carvalho (2013)
<i>Caulerpa scalpelliformis</i>	Gênero representativo em matacões sobrepostos, ocorreu nas duas épocas do ano	Barata (2004); Sá (2011); Carvalho (2013)
<i>Caulerpa sertularioides</i>		Barata (2004); Carvalho (2013)
<i>Caulerpa taxifolia</i>		Barata (2004)
<i>Caulerpa verticillata</i>		Barata (2004); Carvalho (2013)
<i>Caulerpa webbiana</i>		Barata (2004); Carvalho (2013)
<i>Chaetomorpha aerea</i>		Barata (2004)
<i>Chaetomorpha antennina</i>		Barata (2004); Sá (2011); Carvalho (2013)
<i>Chaetomorpha brachygona</i>		Barata (2004)
<i>Chaetomorpha clavata</i>		Barata (2004)
<i>Chaetomorpha linum</i>		Barbosa et al. (2008)
<i>Chaetomorpha nodosa</i>		Barata (2004)
<i>Chaetomorpha spiralis</i>		Barata (2004)
<i>Chamaedoris penicilum</i>		Barata (2004)
<i>Cladophora albida</i>		Barata (2004)
<i>Cladophora brasiliensis</i>		Sá (2011)
<i>Cladophora catenata</i>		Barata (2004)
<i>Cladophora coelothrix</i>		Barata (2004)
<i>Cladophora corallicola</i>		Barata (2004)
<i>Cladophora dalmática</i>		Barata (2004)
<i>Cladophora montagneana</i>		Barata (2004); Barbosa et al. (2008)
<i>Cladophora ordinata</i>	Espécie filamentosa mais frequente no verão	Barata (2004); Barbosa et al. (2008)
<i>Cladophora prolifera</i>		Barata (2004); Sá (2011); Carvalho (2013)

(continua)

Tabela 2: Espécies de algas verdes (Chlorophyta) citadas para o litoral do Espírito Santo (ES), Brasil.

(continuação)		
<i>Cladophora rupestris</i>		Barata (2004); Carvalho (2013)
<i>Cladophora vagabunda</i>	Encontrada na maioria dos pontos de coleta	Barata (2004); Sá (2011); Carvalho (2013)
<i>Cladophoropsis membranacea</i>		Barata (2004); Carvalho (2013)
<i>Codium decorticatum</i>		Barata (2004); Carvalho (2013)
<i>Codium intertextum</i>	Segunda espécie de Chlorophyta mais abundante, predominando em áreas não urbanizadas.	Barata (2004); Sá (2011); Carvalho (2013)
<i>Codium isthmocladum</i>		Barata (2004); Carvalho (2013)
<i>Codium repens</i>		Barata (2004)
<i>Codium spongiosum</i>		Barata (2004)
<i>Codium taylori</i>		Barata (2004); Carvalho (2013)
<i>Derbesia</i>		Barata (2004)
<i>Dictyosphaeria versluysii</i>		Barata (2004); Carvalho (2013)
<i>Halimeda cuneata</i>		Barata (2004); Sá (2011); Carvalho (2013)
<i>Halimeda gracilis</i>	Coletada no infralitoral a uma profundidade de 17 metros.	Barata (2004)
<i>Phyllocladon anastomosans</i>		Barata (2004)
<i>Protomonostroma</i> sp.		Barata (2004)
<i>Rhizoclonium africanum</i>		Barata (2004)
<i>Rhizoclonium riparum</i>		Barata (2004)
<i>Siphonocladus tropicus</i>		Barata (2004)
<i>Udotea cyathiformis</i>		Barata (2004)
<i>Udotea fibrosa</i>		Barata (2004)
<i>Udotea flabellum</i>		Barata (2004); Carvalho (2013)
<i>Ulva chaetomorphoides</i>	Identificada como <i>Enteromorpha chaetomorphoides</i>	Barata (2004)
<i>Ulva clathrata</i>	Identificada como <i>Enteromorpha clathrata</i>	Barata (2004)
<i>Ulva compressa</i>		Barbosa et al. (2008)
<i>Ulva fasciata</i>	Espécie abundante na região estudada; gênero foi predominante em áreas urbanizadas; espécie foliácea mais frequente no verão e no inverno	Barata (2004); Barbosa et al. (2008); Sá (2011); Carvalho (2013)
<i>Ulva flexuosa</i>	Identificada como <i>Enteromorpha flexuosa</i> e <i>E. paradoxa</i> ; espécie abundante, sendo encontrada em praticamente todas as coletas	Barata (2004); Sá (2011); Carvalho (2013)
<i>Ulva lactuca</i>	Gênero foi predominante em áreas urbanizadas; espécie abundante em áreas urbanizadas e não urbanizadas; ocorreu em 61,5% das amostras	Barata (2004); Sá (2011); Carvalho (2013)
<i>Ulva linza</i>	<i>Enteromorpha linza</i>	Barata (2004)
<i>Ulva prolifera</i>	Identificada como <i>Enteromorpha prolifera</i>	Barata (2004)
<i>Ulva rigida</i>	Gênero foi predominante em áreas urbanizadas	Barata (2004); Sá (2011); Carvalho (2013)
<i>Valonia aegagropila</i>		Barata (2004); Carvalho (2013)
<i>Valonia macrophysa</i>		Barata (2004)
<i>Valonia utricularis</i>		Barata (2004)

6 JUSTIFICATIVA

Existe uma demanda no setor industrial e farmacêutico por produtos naturais que apresentem ação antioxidante e bioatividade. Os antioxidantes sintéticos convencionalmente utilizados nas indústrias para conservação de alimentos, medicamentos e cosméticos podem causar, em longo prazo, efeitos adversos ao consumidor. Por esse motivo torna-se importante a busca por fontes naturais de substâncias antioxidantes. Por sua vez, a pesquisa por novas substâncias com atividades antibacteriana e antiviral é importante, pois nos últimos anos houve um uso indiscriminado de medicamentos, o que levou à resistência de agentes patogênicos. Além disso, os diferentes tipos de câncer são uma das principais causas de morte no mundo, e têm se buscado novas fontes de substâncias com atividade antitumoral.

Nesse contexto, as macroalgas marinhas constituem uma importante fonte de produtos naturais, devido à sua composição química, rica em substâncias fenólicas, terpenos e polissacarídeos sulfatados, apresentando potencial como fonte de substâncias com atividade antioxidante, antibacteriana, antiviral e antitumoral.

A costa do Espírito Santo apresenta grande diversidade de espécies de macroalgas, pela variedade de substratos consolidados e pelo afloramento de águas frias. Assim, esse é um local interessante para a prospecção de produtos naturais de macroalgas.

Alguns estudos vêm sendo conduzidos no Laboratório de Algas Marinhas Édison José de Paula do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo (IB-USP) a fim de avaliar o potencial antioxidante e a bioatividade, e caracterizar, identificar e isolar substâncias de macroalgas verdes, vermelhas e pardas. E tanto as espécies de algas e o local escolhido apresentam um grande potencial para esse fim.

7 OBJETIVOS

7.1 Objetivos gerais

Avaliar o potencial de prospecção de macroalgas do litoral do Espírito Santo (ES), mediante estudos dos potenciais antioxidante e bioativo de extratos brutos de quatro espécies de algas pardas e de uma espécie de alga verde (*Codium isthmocladum*).

7.2 Objetivos específicos

- Selecionar e coletar espécies de macroalgas que ocorram em abundância no local de estudo e possam apresentar potencial de aplicação biotecnológico;

- Caracterizar a composição química majoritária de extratos das espécies de algas pardas a fim de relacioná-la com o potencial antioxidante e bioativo;
- Analisar o potencial de exploração dos extratos metanólicos e aquosos das espécies de macroalgas selecionadas mediante a avaliação da capacidade antioxidante;
- Determinar o potencial bioativo das espécies selecionadas por meio da análise da atividade antibacteriana, antiviral e citotóxica de extratos metanólicos e aquosos.

REFERÊNCIAS

- Ahmadi A, Moghadamtousi SZ, Abubakar S, Zandi K (2015) Antiviral potential of algae polysaccharides isolated from marine sources: A Review. *Biomed Res Int* 2015;1–8. doi: 10.1155/2015/825203
- Ahn M-J, Yoon K-D, Min S-Y, et al (2004) Inhibition of HIV-1 reverse transcriptase and protease by phlorotannins from the brown alga *Ecklonia cava*. *Biol Pharm Bull* 27:544–547. doi: 10.1248/bpb.27.544
- Alali FQ, Liu XX, McLaughlin JL (1999) Annonaceous Acetogenins: Recent Progress. *Journal of Natural Products*, 62(3): 504–540. doi:10.1021/np980406d
- Andreo D, Jorge N (2006) Antioxidantes naturais: técnicas de extração. *Bol do CEPPA* 24:319–336. doi: 10.5380/cep.v24i2.7489
- Atashrazm F, Lowenthal RM, Woods GM, et al (2015) Fucoidan and cancer: A multifunctional molecule with anti-tumor potential. *Mar Drugs* 13:2327–2346. doi: 10.3390/md13042327
- Barata G (2004) Clorofíceas marinhas bentônicas do estado do Espírito Santo. Instituto de Botânica
- Barbosa SO, Figueiredo M a. O, Testa V (2008) Estrutura e dinâmica de comunidades bentônicas dominadas por macrófitas na zona intramareal da Praia de Jacaraípe, Espírito Santo, Brasil. *Hoehnea* 35:563–575
- Blunt JW, Copp BR, Munro MHG, et al (2014) Marine natural products. *Nat Prod Rep* 31:160–258. doi: 10.1039/b415080p
- Carvalho LR de, Roque NF (2000) Fenóis halogenados e/ou sulfatados de macroalgas marinhas. *Quim Nova* 23:757–764. doi: 10.1590/S0100-40422000000600009
- Carvalho VF de (2013) Avaliação dos impactos da urbanização sobre as comunidades de macroalgas bentônicas no litoral do Espírito Santo, Brasil. Universidade Federal Rural de Pernambuco
- Chorilli M, Leonardi GR, Salgado HRN (2007) Radicais livres e antioxidantes: conceitos fundamentais para aplicação em formulações farmacêuticas e cosméticas. *Rev Bras Farm* 88:113–118
- Clardy J, Walsh C (2004) Lessons from natural molecules. *Nature* 432(7019): 829–837. doi:10.1038/nature03194
- Cofrades S, López-López I, Bravo L, et al (2010) Nutritional and antioxidant properties of different brown and red spanish edible seaweeds. *Food Sci Technol Int*. doi: 10.1177/1082013210367049
- Costa LS, Fidelis GP, Telles CBS, et al (2011) Antioxidant and antiproliferative activities of heterofucans from the seaweed *Sargassum filipendula*. *Mar Drugs* 9:952–966. doi: 10.3390/md9060952
- Crispino LMB (2000) Feofícias do litoral do Estado do Espírito Santo. Universidade Estadual Paulista
- Damonte EB, Matulewicz MC, Cerezo AS (2004) Sulfated seaweed polysaccharides as antiviral agents. *Curr Med Chem* 11:2399–2419. doi: 10.2174/0929867043364504

- De Clercq E (2000) Current lead natural products for the chemotherapy of human immunodeficiency virus (HIV) infection. *Med Res Rev* 20:323–349
- Degáspari CH, Waszczynskyj N (2004) Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. *Visão Acadêmica* 5:33–40. doi: 10.5380/acd.v5i1.540
- Dewick PM (2009) *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach*, 3.^a ed. John Wiley & Sons, Chichester
- Eom S-H, Kang M-S, Kim Y-M (2008) Antibacterial activity of the Phaeophyta *Ecklonia stolonifera* on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Fish Sci Technol* 11:1–6
- Ferreira ALA, Matsubara LS (1997) Radicais Livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *Rev Ass Med Bras* 43:61–68
- Gordon MH (1990) The mechanism of antioxidant action *in vitro*. In: Hudson BJF (ed) *Food Antioxidants*. Springer Netherlands
- Guimarães S (2003) Uma análise da diversidade da flora marinha bentônica do estado do Espírito Santo, Brasil. *Hoehnea* 30:11–19
- Gupta RK, Jordan MR, Sultan BJ, et al (2012) Global trends in antiretroviral resistance in treatment-naïve individuals with HIV after rollout of antiretroviral treatment in resource-limited settings: A global collaborative study and meta-regression analysis. *Lancet* 380:1250–1258. doi: 10.1016/S0140-6736(12)61038-1
- Horta PA, Amancio E, Coimbra CS, Oliveira EC (2001) Considerações sobre a distribuição e origem da flora de macroalgas marinhas brasileiras. *Hoehnea* 28:243–265
- Hu G-P, Yuan J, Sun L, et al (2011) Statistical research on marine natural products based on data obtained between 1985 and 2008. *Mar Drugs* 9:514–525. doi: 10.3390/md9040514
- INCA (2017) Estimativa 2018: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro
- Incaper (2010) O Novo Cenário da Pesca no Espírito Santo. In: Incaper em Rev. <http://incaper.web407.uni5.net/revista.php?idcap=982>. Accessed 9 Ago 2015
- Karaman I, Şahin F, Güllüce M, et al (2003) Antimicrobial activity of aqueous and methanol extracts of *Juniperus oxycedrus* L. *J Ethnopharmacol* 85:231–235. doi: 10.1016/S0378-8741(03)00006-0
- Koivikko R, Lojonen J, Pihlaja K, Jormalainen V (2007) High-performance liquid chromatographic analysis of phlorotannins from the brown alga *Fucus vesiculosus*. *Phytochem Anal* 18:326–332. doi: 10.1002/pca.986
- Kolanjinathan K, Ganesh P, Saranraj P (2014) Pharmacological Importance of Seaweeds : A Review. *World J Fish Mar Sci* 6:1–15. doi: 10.5829/idosi.wjfm.2014.06.01.76195
- Le Tutour B, Benslimane F, Gouleau MP, et al (1998) Antioxidant and pro-oxidant activities of the brown algae, *Laminaria digitata*, *Himanthalia elongata*, *Fucus vesiculosus*, *Fucus serratus* and *Ascophyllum nodosum*. *J Appl Phycol* 10:121–129. doi: 10.1023/A:1008007313731
- Leal MC, Munro MHG, Blunt JW, et al (2013) Biogeography and biodiscovery hotspots of macroalgal marine natural products. *Nat Prod Rep* 30:1380–1390. doi: 10.1039/c3np70057g
- Lee DS, Kang MS, Hwang HJ, et al (2008) Synergistic effect between dieckol from *Ecklonia stolonifera* and β -lactams against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Biotechnol Bioprocess Eng* 13:758–764. doi: 10.1007/s12257-008-0162-9
- Lee JB, Hayashi K, Maeda M, Hayashi T (2004) Antiherpetic activities of sulfated polysaccharides from green algae. *Planta Med* 70:813–817. doi: 10.1055/s-2004-827228
- MacArtain P, Gill CIR, Brooks M, et al (2007) Nutritional value of edible seaweeds. *Nutr Rev* 65:535–543. doi: 10.1301/nr.2007.dec.535
- Mallick N, Mohn FH (2000) Reactive oxygen species: response of algal cells. *J Plant Physiol* 157:183–193. doi: 10.1016/S0176-1617(00)80189-3
- Maschek JA, Baker BJ (2008) The chemistry of algal secondary metabolism. In: *Algal Chemical Ecology*. p 313
- Ohta Y, Lee J-B, Hayashi K, Hayashi T (2009) Isolation of sulfated galactan from *Codium*

- fragile* and its antiviral effect. Biol Pharm Bull 32:892–898. doi: 10.1248/bpb.32.892
- Oliveira Filho EC de (1977) Algas marinhas bentônicas do Brasil. Universidade de São Paulo
- Palanisamy S, Vinosha M, Marudhupandi T, et al (2017) Isolation of fucoidan from *Sargassum polycystum* brown algae: Structural characterization, *in vitro* antioxidant and anticancer activity. Int J Biol Macromol 102:405–412. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.03.182
- Paoli M De (2008) Degradação e estabilização de polímeros, 2.^a ed. Chemkeys
- Ponce NM, Pujol C, Damonte EB, et al (2003) Fucoidans from the brown seaweed *Adenocystis utricularis*: extraction methods, antiviral activity and structural studies. Carbohydr Res 338:153–165. doi: 10.1016/S0008-6215(02)00403-2
- Ragan MA, Glombitza KW (1986) Phlorotannins, brown algal polyphenols. Prog Phycol Res 4:129–241
- Ramalho VC, Jorge N (2006) Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. Quim Nova 29:755–760. doi: 10.1590/S0100-40422006000400023
- Raymundo S, Horta P, Fett R (2004) Atividade antioxidante in vitro de extratos de algumas algas verdes (Chlorophyta) do litoral catarinense (Brasil). Rev Bras Ciências Farm 40:495–503. doi: 10.1590/S1516-93322004000400007
- Rocha FD, Pereira RC, Kaplan MAC, Teixeira VL (2007) Produtos naturais de algas marinhas e seu potencial antioxidante e antimicrobiano. Rev Bras Farmacogn 17:631–639
- Rupérez P, Ahrazem O, Leal JA (2002) Potential antioxidant capacity of sulfated polysaccharides from the edible marine brown seaweed *Fucus vesiculosus*. J Agric Food Chem 50:840–845. doi: 10.1021/jf010908o
- Sá AD de (2011) Macroalgas bentônicas da Baía do Espírito Santo e adjacências: distribuição, concentração de metais pesados e influência do minério de ferro particulado. Universidade Federal do Rio de Janeiro
- Shibata T, Ishimaru K, Kawaguchi S, et al (2008) Antioxidant activities of phlorotannins isolated from Japanese Laminariaceae. J Appl Phycol 20:705–711. doi: 10.1007/s10811-007-9254-8
- Sies H (1993) Strategies of antioxidant defense. Eur J Biochem 215:213–219. doi: 10.1016/1043-6618(95)86904-2
- Smit AJ (2004) Medicinal and pharmaceutical uses of seaweed natural products: A review. J Appl Phycol 16:245–262. doi: 10.1023/B:JAPH.0000047783.36600.ef
- Soares SE (2002) Ácidos fenólicos como antioxidantes. Rev Nutr 15:71–81. doi: 10.1590/S1415-52732002000100008
- Sosa MAG, Fazely F, Koch JA, et al (1991) N-Carboxymethylchitosan-N,O-sulfate as an anti-HIV-1 agent. Biochem Biophys Res Commun 174:489–496. doi: 10.1016/0006-291X(91)91443-G
- Stengel DB, Connan S, Popper ZA (2011) Algal chemodiversity and bioactivity: Sources of natural variability and implications for commercial application. Biotechnol Adv 29:483–501. doi: 10.1016/j.biotechadv.2011.05.016
- Taiz L, Zeiger E (2006) Fisiologia Vegetal, 3.^a ed. Artmed, Porto Alegre
- Teixeira VL (2013) Produtos naturais de algas marinhas bentônicas. Rev Virtual Quim 5:343–362. doi: 10.5935/1984-6835.20130033
- UNAIDS (2016) Get on the Fast-Track. Geneva
- Viennois E, Chen F, Laroui H, et al (2013) Dextran sodium sulfate inhibits the activities of both polymerase and reverse transcriptase: lithium chloride purification, a rapid and efficient technique to purify RNA. BMC Res Notes 6:360. doi: 10.1186/1756-0500-6-360
- Vijayabaskar P, Shiyamala V (2011) Antibacterial activities of brown marine algae (*Sargassum wightii* and *Turbinaria ornata*) from the Gulf of Mannar Biosphere Reserve. Adv Biol Res (Rennes) 5:99–102
- Wang X, Chen Y, Wang J, et al (2014) Antitumor activity of a sulfated polysaccharide from *Enteromorpha intestinalis* targeted against hepatoma through mitochondrial pathway. Tumor Biol 35:1641–1647. doi: 10.1007/s13277-013-1226-9

- Wanke T, Philippus AC, Zatelli GA, Vieira LFO, Lhullier C, Falkenberg M (2015) C15 acetogenins from the Laurencia complex: 50 years of research – an overview. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 25(6): 569-587. doi: 10.1016/j.bjp.2015.07.027
- WHO (2014) World Cancer Report 2014. Lyon
- WHO (2017) Global Antimicrobial Resistance Surveillance System (GLASS) report: early implementation 2016-2017. Geneva
- Yan X, Chuda Y, Suzuki M, Nagata T (1999) Fucoxanthin as the major antioxidant in *Hijikia fusiformis*, a common edible seaweed. *Biosci Biotechnol Biochem* 63:605–607. doi: 10.1271/bbb.63.605
- Ye H, Wang K, Zhou C, et al (2008) Purification, antitumor and antioxidant activities *in vitro* of polysaccharides from the brown seaweed *Sargassum pallidum*. *Food Chem* 111:428–432. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.04.012
- Yoneshigue-Valentin Y, Gustinari LMS, Fernandes DRP (2006) Macroalgas. In: Lavrado HP, Ignacio BL (eds) Biodiversidade bentônica da região central da Zona Econômica Exclusiva Brasileira. Museu Nacional, Rio de Janeiro, p 389
- Young RM, Schoenrock KM, Salm JL von, et al (2015) Structure and Function of Macroalgal Natural Products. In: Stengel DB, Connan S (eds) Natural products from marine algae. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, p 439
- Zubia M, Robledo D, Freile-Pelegrin Y (2007) Antioxidant activities in tropical marine macroalgae from the Yucatan Peninsula, Mexico. *J Appl Phycol* 19:449–458. doi: 10.1007/s10811-006-9152-5

Considerações Finais

A avaliação do potencial antioxidante e bioativo de macroalgas constitui um foco de pesquisa na área de ficologia, pois contribui para o conhecimento da diversidade química das espécies. Além disso, a busca por novas fontes de produtos naturais, apresenta aplicação na área de alimentos funcionais e na área farmacêutica, contribuindo para prevenção e tratamento de doenças.

Algas pardas são caracterizadas pela presença de substâncias fenólicas, principalmente da classe dos florotaninos, que são relacionadas a atividades biológicas. Por esse motivo, extratos acetato de etila e metanólicos foram submetidas à análise em CLAE-DAD. O método para análise dos extratos acetato de etila e metanólico em CLAE-DAD foi eficiente para a separação das substâncias presentes nos extratos, caracterizadas como substâncias fenólicas por apresentarem banda de absorção entre 240-290 nm. A partir dos dados de CLAE-DAD, foi possível observar que a composição fenólica variou principalmente entre os tipos de extrato.

Para as cinco espécies, os extratos metanólico e aquoso apresentaram os maiores rendimentos, e por esse motivo foram utilizados para avaliação do potencial antioxidante e bioativo. De modo geral, o extrato metanólico de *P. gymnospora* apresentou maior potencial antioxidante, que pode estar relacionado à presença de substâncias fenólicas, indicando o potencial biotecnológico dessa espécie como fonte de substâncias antioxidantes naturais.

Os extratos metanólicos e aquosos das cinco espécies, apresentaram alguma atividade biológica *in vitro* (antiviral e/ou antitumoral), que podem estar relacionadas à presença de substâncias fenólicas e polissacarídeos sulfatados. O potencial antiviral, analisado pela capacidade de inibição da TR-HIV, foi maior nos extratos aquosos de *P. gymnospora*, *S. cymosum* e *C. isthmocladum*. O maior potencial antitumoral foi encontrado nos extratos aquosos de *D. plagiogramma* e *C. isthmocladum*, que apresentaram alta atividade de inibição do crescimento da linhagem HCT-116. Os resultados encontrados indicam o potencial bioativo das macroalgas estudadas, principalmente do extrato aquoso de *D. plagiogramma*, *P. gymnospora*, *S. cymosum* e *C. isthmocladum*. Além disso, essas espécies apresentaram potencial para prospecção de produtos naturais, assim sugere-se maior investimento de pesquisa sobre essas espécies para elucidar quais as substâncias são responsáveis pelas atividades biológicas, a fim de entender os mecanismos de ação antioxidante, antiviral e antitumoral.

Resumo

As macroalgas marinhas constituem uma importante fonte de produtos naturais, devido à sua composição química, rica em substâncias fenólicas, terpenos e polissacarídeos sulfatados, apresentando potencial biotecnológico como fonte de substâncias com atividade antioxidante, antiviral, antitumoral e antibacteriana. Nesse sentido, o objetivo do presente estudo foi avaliar o potencial de prospecção de macroalgas do litoral do Espírito Santo (ES), mediante estudos dos potenciais antioxidante e bioativo de extratos brutos de quatro espécies de algas pardas (*Chnoospora minima*, *Dictyopteris plagiogramma*, *Padina gymnospora* e *Sargassum cymosum*) e de uma espécie de alga verde (*Codium isthmocladum*). A caracterização inicial dos extratos acetato de etila e metanólico das algas pardas, demonstrou a presença de constituintes com características distintas, indicando que pertencem à diferentes classes fenólicas. Os extratos metanólicos e aquosos das cinco espécies apresentaram os maiores rendimentos, sendo utilizados para análise do potencial antioxidante e bioativo. O extrato metanólico de *P. gymnospora* apresentou o maior potencial antioxidante e o maior teor de substâncias fenólicas totais pelo ensaio Folin-Ciocalteu, indicando o potencial dessa espécie como ingrediente funcional e na busca de substâncias antioxidantes naturais. As espécies analisadas apresentaram potencial bioativo (antiviral e antitumoral), sendo que os extratos aquosos foram mais ativos, quando comparados aos metanólicos. O maior potencial antiviral foi encontrado nos extratos aquosos de *P. gymnospora*, *S. cymosum* e *C. isthmocladum*, e o maior potencial antitumoral nos extratos aquosos de *D. plagiogramma* e *C. isthmocladum*. Tanto o potencial antiviral, como antitumoral podem estar relacionados à presença de substâncias fenólicas e polissacarídeos sulfatados nos extratos. Os resultados obtidos demonstram que as espécies estudadas, principalmente *D. plagiogramma*, *P. gymnospora*, *S. cymosum* e *C. isthmocladum*, apresentam potencial para prospecção de produtos naturais.

Abstract

Marine macroalgae are an important source of natural products, due to their chemical composition, rich in phenolic substances, terpenes and sulphated polysaccharides, presenting biotechnological potential as a source of substances with antioxidant, antiviral, antitumor and antibacterial activity. In this sense, the objective of the present study was to evaluate the potential of macroalgae prospecting on the coast of Espírito Santo (ES), through studies of the antioxidant and bioactive potentials of crude extracts of four species of brown seaweeds (*Chnoospora minima*, *Dictyopteris plagiogramma*, *Padina gymnospora* and *Sargassum cymosum*) and a species of green seaweed (*Codium isthmocladum*). The initial characterization of the ethyl acetate and methanolic extracts of the brown seaweeds, showed the presence of constituents with distinct characteristics, indicating that they belong to the different phenolic classes. The methanolic and aqueous extracts of the five species presented the highest yields, being used for analysis of the antioxidant and bioactive potential. The methanolic extract of *P. gymnospora* presented the highest antioxidant potential and the highest content of total phenolic substances by the Folin-Ciocalteu assay, indicating the potential of this species as a functional ingredient and the search for natural antioxidant substances. The analyzed species presented bioactive potential (antiviral and antitumor), and the aqueous extracts were more active when compared to methanolic. The highest antiviral potential was found in aqueous extracts of *P. gymnospora*, *S. cymosum* and *C. isthmocladum*, and the highest antitumor potential in aqueous extracts of *D. plagiogramma* and *C. isthmocladum*. Both antiviral and antitumoral potential may be related to the presence of phenolic substances and sulfated polysaccharides in the extracts. The results showed that the studied species, especially *D. plagiogramma*, *P. gymnospora*, *S. cymosum* and *C. isthmocladum*, present potential for the prospection of natural products.