

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO**

**Potencial fotoprotetor de extratos e substâncias isoladas de  
fungos endofíticos da alga marinha vermelha *Bostrychia*  
*radicans* e de algas originárias da Antártica**

**Renata Spagolla Napoleão Tavares**

Ribeirão Preto

2016

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO**

**Potencial fotoprotetor de extratos e substâncias isoladas de fungos endofíticos da alga marinha vermelha *Bostrychia radicans* e de algas originárias da Antártica**

Dissertação de Mestrado  
apresentada ao Programa de Pós-  
Graduação em Ciências  
Farmacêuticas para obtenção do  
Título de Mestre em Ciências

**Área de Concentração:**  
Medicamentos e Cosméticos

**Orientada:** Renata Spagolla  
Napoleão Tavares

**Orientadora:** Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Lorena Rigo  
Gaspar Cordeiro

Versão corrigida da Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências farmacêuticas em 14/04/2016. A versão original encontra-se disponível na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP.

Ribeirão Preto

2016

## RESUMO

TAVARES, R. S. N. **Potencial fotoprotetor de extratos e substâncias isoladas de fungos endofíticos da alga marinha vermelha *Bostrychia radicans* e de algas originárias da Antártica.** 2016. 111 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto – SP, 2016.

A necessidade de proteger a pele contra os raios ultravioleta (UV) é imprescindível, tendo em vista os efeitos deletérios gerados pelos mesmos. Compostos convencionais com atividade fotoprotetora sofrem interações, instabilidade e em sua maioria protegem contra os raios UVB. Poucos compostos apresentam proteção contra os raios UVA. No ambiente marinho, como nas algas marinhas, adversidades do ambiente relacionadas, principalmente, a exposição solar, aumentam as defesas naturais contra os raios UV por meio da produção de metabólitos secundários que podem absorver/refletir os raios solares, ou agir como antioxidantes. Tais moléculas podem ser produzidas pelas próprias algas ou pelos fungos endofíticos associados a elas. Assim, o presente estudo tem como objetivo investigar o potencial fotoprotetor de extratos, frações e substâncias isoladas dos fungos endofíticos *Xylaria sp* e *Annulohyphoxylon stygium*, associados à alga vermelha *Bostrychia radicans*. Bem como de quatro espécies de algas da Antártica, *Palmaria decipiens*, *Monostroma hariotii*, *Desmarestia anceps* e a *Gigartina skottsbergii*. As algas da Antártica foram disponibilizadas pelo grupo do Prof. Dr. Pio Colepicolo Neto do IQ-USP e o cultivo dos fungos, a extração e o isolamento foram desenvolvidos em parceria com o Laboratório de Química Orgânica do Ambiente Marinho - NPPNS da FCFRP-USP. Os extratos e frações obtidos foram submetidos à análise dos espectros de absorção no UV e à fotodegradação. A seguir, os extratos e frações mais promissoras foram submetidos à avaliação da fototoxicidade em cultura de fibroblastos 3T3 para a determinação da viabilidade celular na presença e ausência da radiação, de acordo com o protocolo OECD TG 432. O fungo *A. stygium* apresentou frações com absorção no UVB, duas subfrações se mostraram não cito/fototóxicas e são provenientes de frações fotoestáveis. Destas subfrações, duas substâncias, ambas inéditas, foram isoladas e elucidadas por RMN  $H^1$  1D, 2D, IV, ESI, e estas foram consideradas potenciais ativos para fotoproteção no UVB. O fungo *Xylaria sp* apresentou frações com absorção na região do UV, porém apenas uma, com absorção no UVB se mostrou fotoestável. Esta mesma fração foi considerada cito e fototóxica. Não foi possível identificar as duas substâncias isoladas pela baixa massa. Entretanto, um metabólito já isolado dessa linhagem anteriormente, o ácido gentísico, foi considerado não fototóxico, devendo ser melhor investigado quanto ao seu potencial como filtro biológico. Quanto às macroalgas antárticas, três espécies apresentaram absorção no UV. Apesar de a maioria dos extratos terem sido considerados fotoestáveis, o extrato da alga *D. anceps*, de maior rendimento, apresentou frações com ampla absorção no UVA/VIS, no entanto elevada citotoxicidade. Desta fração foi isolada e identificada a fucoxantina (RMN  $H^1$  1D e 2D, ESI), um carotenoide marinho que apresentou potencial fototóxico no modelo monocamadas, mas não foi considerada citotóxica. Sendo assim, este pode ser considerado um promissor candidato a ativo cosmético, pelas suas propriedades antioxidantes e de filtro biológico, pois devido a sua alta massa molecular, 658.90 g/mol, pode-se inferir baixa permeação nas camadas viáveis da pele e ausência de fototoxicidade *in vivo*. Nesse sentido, novos estudos em modelo de pele 3D deverão ser realizados a fim de se comprovar a segurança de uso tópico da fucoxantina. As espécies também devem ser investigadas para outras atividades biológicas uma vez que este material pertence a uma região pouco estudada e estas podem apresentar potencial para os mais diversos empregos farmacológicos ou cosméticos.

**Palavras-chave:** Macroalgas da Antártica, *Xylaria sp.*, *Annulohyphoxylon stygium*, filtro solar biológico, fototoxicidade, segurança.

## ABSTRACT

TAVARES, R. S. N. **Photoprotective potential of extracts and isolated compounds from endophytic fungi of red marine alga *Bostrychia radicans* and algae originating from Antarctica.** 2016.111 f. Thesis (Master's Degree) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto – SP, 2016.

The need to protect the skin against ultraviolet (UV) radiation is essential, due to the deleterious effects caused by them. Conventional UV-filters undergo chemical interactions, instability and mostly protect against UVB rays. Few compounds have protection against UVA rays. In the marine environment, especially in marine algae, adversities, mainly related to sun exposure, increases the natural defenses against UV radiation through the production of secondary metabolites that can absorb/reflect the UV radiation, or even act as antioxidants. Such molecules may be produced by algae themselves or by the endophytic fungi associated with them. The present study aims to investigate the potential of new sunscreen extracts, fractions and isolated compounds from endophytic fungi *Xylaria* sp and *Annulohyphoxylon stygium*, associated with red algae *Bostrychia radicans*, and four species of algae from Antarctica: *Palmaria decipiens*, *Monostroma hariotii*, *Desmarestia anceps* and *Gigartina skottsbergii*. The algae material from Antarctica were given by the group of Prof. Dr. Pio Colepicolo Neto, IQ-USP, and the fungi cultivation, extractions and the compounds isolation were obtained in partnership with the Laboratory of Organic Chemistry of the Marine Environment - NPPNS of FCFRP-USP. The extracts and fractions obtained were submitted to analysis of the absorption spectra in the UV and to photodegradation. After that, the most promising extracts and fractions were submitted to the assessment of phototoxicity in 3T3 fibroblasts in culture for determination of cell viability in the presence and absence of radiation, in accordance with the OECD TG 432 protocol. The fungus *A. stygium* showed fractions with UVB absorption, from there were isolated two novel compounds and had the structure elucidated (RMN  $H^1$  1D/2D; IV; ESI). These compounds were considered potential ingredients for photoprotection on the UVB range. The fungus *Xylaria* sp. showed fractions with absorption on the UV, but only one of them, with UVB absorption, was considered photostable. The same fraction was also considered cyto/ phototoxic. It was not possible identify two of the compounds isolated due its low weight. Therefore, the gentisic acid, a metabolite already isolated from this fungus, was not considered phototoxic, what suggests that it should be better investigated as a potential biological UV filter. Regarding the seaweeds, three species have shown absorption in UV region. Most of the extracts were considered photounstable, but the *D. anceps* extract, of highest yield, showed fractions with large UVA/VIS absorption, but higher cytotoxic potential. Fucoxanthin, a marine carotenoid, was isolated from this fraction and identified by NMR  $H^1$  1D/2D, ESI. This compound showed phototoxic potential in a monolayer model, but it was not considered cytotoxic. Therefore, fucoxanthin is a promising candidate to a cosmetic ingredient, once it has antioxidant and biological UV filter properties and its high molecular weight, 658.90 g/mol, suggests low skin permeation into viable epidermis and absence of *in vivo* phototoxicity. Thus, more studies using 3D skin model should be performed in order to prove the safety of the fucoxanthin topical use. The species should be also investigated for other biological activities once this material belongs to a poorly studied region and can show potential for many of the pharmacological/cosmetics activities.

**Key-words:** Antarctic seaweed, *Xylaria* sp., *Annulohyphoxylon stygium*, biological UV-filter, phototoxicity, safety.

# 1. Introdução

A estimativa do câncer de pele do tipo não melanoma para o ano de 2016 no Brasil, aponta para a ocorrência de cerca de 175.760 casos novos. É o câncer mais frequente no país e corresponde a 25% de todos os tumores malignos registrados (INCA, 2016).

O sol, apesar de possuir efeitos benéficos, é um dos fatores de risco para o câncer de pele, dessa forma, a prevenção à exposição excessiva deve ser estimulada, assim como o incentivo ao uso dos filtros solares. Estes devem ser um produto com ampla proteção aos raios ultravioleta.

Entende-se por ultravioleta (UV), a região do espectro eletromagnético emitido pelo sol, compreendida entre os comprimentos de onda de 200 a 400 nm. Esta região está conceitualmente dividida em três faixas, o UVC: de 200 a 280 nm; O UVB: de 290 a 320 nm; E o UVA: de 320 a 400 nm (BRASIL, 2012).

Estes raios somam apenas 5% do espectro solar total, mas possuem um enorme impacto sobre a pele. A radiação UVC é normalmente filtrada na atmosfera pela camada de ozônio e é capaz de matar os organismos unicelulares expostos a ela. A radiação UVB é parcialmente filtrada pela camada de ozônio e tal radiação está intrinsecamente relacionada ao aumento do câncer de pele, uma vez que esta penetra nas camadas superficiais da pele (epiderme) gerando espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, que resultam em inflamação e queimadura solar. Os fótons de alta energia, ao serem absorvidos pelas bases de DNA, podem causar mutagêneses relacionadas ao desenvolvimento do câncer de pele (DUPONT, GOMEZ; BILODEAU, 2013; PFEIFER; BESARATINIA, 2012).

Já a radiação UVA, que representa 95% dos raios UV que atingem a Terra, penetra profundamente nas camadas da pele (derme) contribuindo significativamente para o envelhecimento prematuro e a formação de rugas. Além disso, potencializa os efeitos carcinogênicos do UVB e estimula a geração de radicais livres na pele. Ainda, a radiação UVA na subfaixa de 360 - 380 nm é considerada imunossupressora (MASLIN, 2014; PFEIFER and BESARATINIA, 2012).

Para conter os possíveis danos da radiação solar, os filtros solares foram desenvolvidos desde os tempos remotos. Baseados em seus componentes químicos e seus mecanismos de ação, podem ser classificados em orgânicos e inorgânicos. Os filtros orgânicos são geralmente compostos aromáticos que absorvem o UV e os inorgânicos são minerais que podem refletir ou dissipar a radiação (SHAATH, 2010; DUPONT, GOMEZ; BILODEAU, 2013; MANCEBO et al, 2014).

Substâncias naturais de origem marinha têm sido bastante utilizadas em formulações fotoprotetoras por apresentarem ação antioxidante e de filtro biológico. Dentre elas, as

micosporinas tipo aminoácidos (MAAs) se destacam por fazerem parte de uma família de compostos intracelulares envolvidos na proteção dos organismos aquáticos contra a radiação solar, com o pico de absorção na faixa de 310 à 360 nm. Além deste papel, tem sido sugerido que alguns deles podem atuar como antioxidantes (CAVALCANTI et al., 2013). Já se encontram disponíveis no mercado, desde 2011, o Helioguard 365® e o Helionori®, que são extratos de macroalgas compostos de MAAs como a *Shinorina* e a *Porphyra-334*, que agem como filtros UVA (FERRONI et al., 2010; SIEZEN, 2011).

Além dos organismos marinhos, como as algas, muito da produção desses metabólitos de interesse advém de seus fungos associados. Estes microrganismos são endossimbiontes, que não produzem sintomas de doenças visíveis em seus hospedeiros (CARLIE; WATKINSON, 1997; GAMBOA; BAYME, 2001; GUNATILAKA, 2006).

Assim, um dos focos do estudo proposto envolve espécies endêmicas e provenientes da Antártica. Cumpre salientar, que este possui o clima mais frio do planeta e os organismos que lá se adaptaram, os chamados extremófilos (SINGH; GABANI, 2011), para sobreviver, têm desenvolvido estratégias de defesa que resultam em compostos produzidos por diferentes vias metabólicas, principalmente em reação aos danos provocados pela acentuada formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) induzida pelos raios UV (CAVALCANTI et al., 2013). Em líquens coletados nesta região, foram encontrados cromóforos que absorvem ao longo do UV e essas moléculas são candidatas a ser uma nova geração de filtros solares naturais, seja por absorverem a radiação UV ou por atuarem como potentes antioxidantes (BOEHM et al., 2009).

Além de o continente antártico ser um ambiente inóspito e curioso para a pesquisa de produtos naturais, é o continente mais alto do globo (BRASIL, 2006), este fato aumenta a incidência dos raios UV, inclusive dos raios UVC e cósmicos, o ambiente de neve também influi ao refletir a maior parte da radiação e isto faz com que nos períodos de verão, este seja um ambiente extremamente iluminado, o que justifica a busca de metabólitos produzidos pelas algas desta região.

Entretanto, dentre as regiões do planeta com maior incidência dos raios UVB, estão as regiões tropicais. Assim, dois fungos associados à uma alga marinha coletada na região litorânea de São Paulo, também se mostraram interessantes pela produção de metabólitos que absorvem o UVB.

Sendo assim, no intuito de se estudar espécies algas e fungos quanto ao seu potencial como filtro biológico, os alvos do presente estudo foram duas espécies de fungos associados à alga *Bostrychia radicans*: *Xylaria* sp. e o *Annulohyphoxylon stygium*, por apresentarem

absorção na região de interesse constatado previamente pelo grupo. E, ainda, quatro espécies de algas marinhas endêmicas da Antártica: *Palmaria decipiens*, *Monostroma hariotii*, *Desmarestia anceps* e a *Gigartina skottsbergii*.

No entanto, componentes de origem natural podem apresentar estabilidade limitada e geralmente há pouca informação sobre a segurança de uso. Ao mesmo tempo em que elas podem se comportar como antioxidantes e/ou ter atividade como filtro biológico, elas podem também apresentar atividade pró-oxidante e risco à saúde do consumidor (CAMBON et al., 2001; GASPAR; MAIA CAMPOS, 2006; PARIS et al., 2009). Sendo assim, ocorre a necessidade de se estudá-las quanto à segurança, além da sua eficácia.

Por conseguinte, todos os extratos e frações, obtidos por extração em solventes orgânicos, que possuíam potencial como filtros biológicos através de uma análise de seus espectros de absorção no UV, foram submetidos à avaliação da fotoestabilidade e fototoxicidade pelo método *in vitro* 3T3 NRU PT (Teste de fototoxicidade por captação do vermelho neutro em fibroblastos murinos 3T3), de acordo protocolo OECD TG 432, que, por apresentar alta sensibilidade e especificidade, é o teste validado principal e normalmente o único ensaio exigido para a determinação da fototoxicidade aguda quando a substância não apresenta potencial fototóxico (LIEBSCH et al., 2005).

Neste contexto, o presente projeto contribui para obtenção de novos candidatos a filtros solares de origem marinha, os quais tiveram seu potencial fotoprotetor avaliado por meio de métodos *in vitro* alternativos aos de animais de experimentação, o que vai ao encontro das exigências dos Órgãos Governamentais Regulatórios de Saúde e a uma tendência mundial.



## 6. Conclusão

Por meio dos resultados obtidos, é possível concluir que:

1. *Xylaria* sp.: as frações “E”, “F” e “G”, apresentaram absorção na região do UV, porém apenas a fração E, que tem pico máximo no UVB se mostrou fotoestável. Esta mesma fração foi considerada cito e fototóxica. As duas subfrações provenientes da Fração E, ou seja, SEI e SEII, foram consideradas cito e fototóxicas ou apenas fototóxicas, respectivamente. Pela baixa massa não foi possível identificá-las. Além disso, o ácido gentísico, isolado dessa linhagem anteriormente, foi considerado não fototóxico, devendo ser melhor investigado quanto ao seu potencial como filtro biológico. Esta linhagem de fungo deverá ser estudada quanto eliciação luminosa, para a investigação de sua capacidade produtora de ácido gentísico, em quantidades superiores.
2. *Annulohyphoxylon stygium*: duas subfrações do fungo *A. stygium* se mostraram não cito/fototóxicas e são provenientes de frações fotoestáveis. Destas subfrações duas substâncias foram isoladas, ambas inéditas, e estas foram consideradas potenciais ativos para fotoproteção no UVB.
3. Algas antárticas:
  - Dentre as quatro espécies de algas estudadas, três delas absorviam no UV, dentre as três, a mais fotoestável nas faixas do UV e de maior rendimento foi a alga *Desmarestia anceps*. A partir desta foi isolada a fucoxantina, que absorve no UVA/VIS. Essa substância apresentou potencial fototóxico, mas não foi considerada citotóxica. Sendo assim, devido ao seu alto peso molecular, esta é uma excelente candidata a ativo cosmético, pelas suas propriedades antioxidantes e de filtro biológico, além de um possível agente clareador e anti-aging. No entanto, estudos em pele 3D deverão ser realizados a fim de se comprovar a não permeação da substância, além da avaliação da associação desta a um filtro solar de amplo espectro no intuito de garantir a segurança de uso da Fx topicamente bem como garantir outros benefícios atribuídos a essa substância;
  - O extrato da alga *Monostroma hariotii* apresentou absorção na região do UVA e UVB. As frações A2F11 e A2F12, provenientes desta alga, apresentam absorção na região de interesse para a fotoproteção, porém ambas se mostraram fotoinstáveis.
  - Novos estudos com estas espécies devem ser realizados no intuito de se isolar os metabolitos presentes para testá-los para outras atividades biológicas, uma vez que se trata de um material de uma região ainda pouco estudada, estes podem conter potentes moléculas para os mais diversos empregos farmacológicos e/ou cosméticos.

## 7. Referências Bibliográficas

- ATARASHI, K.; TAKANO, M.; KATO, S.; KUMA, H.; NAKANISHI, M.; TOKURA, Y.; Addition of UVA-absorber butyl methoxy dibenzoylmethane to topical ketoprofen formulation reduces ketoprofen-photoallergic reaction, **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, 113, 2012.
- AVILA, C.; Research Living in the Cold: Chemical Ecology, Deep Sea and Polar in Antarctica. Conference Report The 9th European Conference on Marine Natural Products **Marine Drugs**, 13, 7150–7249, 2015.
- BAYMAN, P.; ANGULO-SANDOVAL, P.; BAEZ-ORTIZ, Z.; LODGE, D. J.; Distribution and dispersal of *Xylaria* endophytes in two tree species in Puerto Rico, **Mycol. Res.** 102(8): 944±948, 1998.
- BECKER, S.; QUARTINO, M.L.; CAMPANA, G.L.; BUCOLO, P.; WIENCKE, C.; BISCHOF, K.; The biology of an Antarctic rhodophyte, *Palmaria decipiens*: recent advances. **Antarctic Sciences**, Vol. 23, 419-430, 2011.
- BIAN, S.; DOH, H. J.; ZHENG, J.; KIM, J. S.; LEE C. H.; KIM, D. D.; In vitro evaluation of patch formulations for topical delivery of gentisic acid in rats. **European Journal of Pharmaceutical Sciences** 18, 141–147, 2003.
- BOEHM, F.; CLARKE, K.; EDGE, R.; FERNANDEZ, E.; NAVARATNAM, S.; QUILHOT, W.; RANCAN, F.; TRUSCOTT, T.G.; Lichens — photophysical studies of potential new sunscreens. **Journal Photochem Photobiol B**, v. 95, p. 40-45, 2009.
- BRASIL, Antártica: ensino fundamental e ensino médio / coordenação Maria Cordélia S. Machado, Tânia Brito. – Brasília : Ministério da Educação, Secretaria de Educação Básica, 167 p.: il. (**Coleção explorando o ensino**; v. 9), 2006.
- BRASIL, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução nº30 de 1º de junho de 2012. Fica aprovado o Regulamento Técnico Mercosul sobre Protetores Solares em cosméticos nos Termos desta Resolução. Diário Oficial da União, Brasília, 4 de junho, 2012.
- CAMBON, M.; ISSACHAR, N.; CASTELLI, D.; ROBERT, C.; An in vivo method to assess the photostability of UV filters in a sunscreen, **Journal Cosmetology. Sci.**, v.52, p.1–11, 2001.
- CARLETTI, G.; NERVO, G.; CATTIVELLI, L. Flavonoids and Melanins: A Common Strategy across Two Kingdoms, **Int. Journal Biol. Science.**, Vol. 10, 2014.
- CARLILE, M.J. WATKINSON S.C. The Fungi. **Academic Press**, New York, p. 482, 1997.
- CARLUCCI, M.J.; PUJOL, C.A.; CIANCIA, M.; NOSEDA, M.D.; MATULEWICZ, M.C.; DAMONTE, E.B.; CERREZ, A.S. Antiherpetic and anticoagulant properties of carrageenans from the red seaweed *Gigartina skottsbergii* and their cyclized derivatives: correlation between structure and biological activity, **International Journal of Biological Macromolecules**, vol. 20, 97–105, 1997.
- CARTER, G.; The Promise and Perils of Marine Natural Products as Leads for Drug Discovery, Conference Report The 9th European Conference on Marine Natural Products **Marine Drugs**, 13, 7150–7249, 2015.

- CAVALCANTI, D. N.; LIMA, J. A.; BARRETO, D. W.; Algas Marinhas: Fonte Potencial de Novos Ativos Cosméticos. **Revista Cosmetics & Toiletries Brasil**. Vol. 25, set-out, 2013.
- CERIDONO, M; TELLNER, P; BAUER, D; BARROSO, J.; ALÉPÉE, N; CORVI, R; DE SMEDT, A.; FELLOWS, M. D., GIBBS, N. K.; HEISLER, E.; JACOBS, A.; JIROVA, D; JONES, D.; KANDÁROVÁ, H.; KASPER, P.; AKUNDA, J. K.; KRUL, C., LEARN, D.; LIEBSCH, M.; LYNCH, M. A., MUSTER, W.; NAKAMURA, K.; NASH, J. F.; PFANNENBECKER, U.; PHILLIPS, G., ROBLES, C., ROGIERS, V.; VAN DE WATER, F.; LIMINGA, U. W.; VOHR, H-W., WATTRELOS, O., WOODS, J.; ZUANG, V.; KREYSA, J.; WILCOX, P.; The 3T3 neutral red uptake phototoxicity test: Practical experience and implications for phototoxicity testing – The report of an ECVAM–EFPIA workshop Regulatory Toxicology and Pharmacology 63, 480–488., 2012.
- CHENG, M-J; WU, M-D; CHEN, J-J; CHENG, Y-C; HSIEH, M-T; HSIEH, S-Y; YUAN, G-F; SU, Y-S. Secondary Metabolites from the Endophytic Fungus *Annulohyphylon stygium* BCRC 34024. **Chemistry of Natural Compounds**, Vol. 50, Issue 2, pp 237-241. 2014.
- COSTA; E. B. O.; PACHECO, C; Epigenetics: gene expression regulation at transcriptional level and its implications; **Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 34, n. 2, p. 125-136, jul./dez, 2013.
- D’ORAZIO, N.; GEMELLO, E.; GAMMONE, M. A.; DE GIROLAMO, M.; FICONERI, C.; RICCIONI, G., Fucoxantin: A Treasure from the Sea, **Marine Drugs**, 10, 604-616, 2012.
- DAMONTEA, E. B.; MATULEWICZ, M. C. AND CEREZO, A. S.; Sulfated Seaweed Polysaccharides as Antiviral Agents, **Current Medicinal Chemistry**, vol. 11, Nº 18, 2004.
- DE OLIVEIRA, A L L; Algas e micro-organismos marinhos como fonte de substâncias bioativas: química e biologia de *Bostrychia radicans* e fungos endofíticos associados, Tese de doutorado, FCFRP, USP, Ribeirão Preto – SP, 2013;
- DE OLIVEIRA, A. L. L. Avaliação química e biológica de espécimens de *Bostrychia radicans* (Rhodomelaceae). 2009. 88f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – FCFRP, USP, Ribeirão Preto, 2009.
- DUNLAP, W.C.; CHALKER, B.E.; BANDARANAYAKE, W.M.; WU WON, J.J. Nature's sunscreen from the Great Barrier Reef, Australia. **International Journal of Cosmetic Science**, v.20, p.41-51, 1998.
- DUPONT, E.; GOMEZ, J. AND BILODEAU, D. Beyond UV radiation: A skin under challenge, **International Journal of Cosmetic Science**, 35, 224–232, 2013.
- EBANKS, J. P.; WICKETT, R. P.; BOISSY, R. E.; Mechanisms Regulating Skin Pigmentation: The Rise and Fall of Complexion Coloration, **International Journal of Molecular Sciences**, vol. 10, 4066-4087, 2009.

- EBERT, C; Otimização das condições de cultivo in vitro e estudos químicos e biológicos de algas marinhas do gênero *Bostrychia Montagne* (Rhodomelaceae, Rhodophyta), Tese de doutorado, FCFRP, USP, Ribeirão Preto – SP, 2011;
- ERBERT, C; LOPES, A. A.; YOKOYA, S. N.; FURTADO, N. A. J. C.; CONTI, R; PUPO, M. T.; LOPES, J. L. C. AND DEBONSI, H. M.; Antibacterial compound from the endophytic fungus *Phomopsis longicolla* isolated from the tropical red seaweed *Bostrychia radicans*, **Botanica Marinha** 55: 435–440, 2012.
- FAIRHEAD, A. ; AMSLER, D. C.; MCCLINTOCK, B. J.; BAKER, J. B.; Variation in phlorotannin content within two species of brown macroalgae (*Desmarestia anceps* and *D. menziesii*) from the Western Antarctic Peninsula. **Polar Biology** 28, 680-686, 2005.
- FERRONI, L.; KLISCH, M.; PANCALDI, S.; HÄDER, D-P: Complementary UV-Absorption of Mycosporine-like Amino Acids and Scytonemin is Responsible for the UV-Insensitivity of Photosynthesis in *Nostoc flagelliforme*; **Marine Drugs**, 8, 106-121, 2010.
- FREITAS, J. V., PRAÇA, F.S.G.; BENTLEY, M.V.L.B.; GASPAR, L.R.; Trans-resveratrol and beta-carotene from sunscreens penetrate viable skin layers and reduce cutaneous penetration of UV-filters, **International Journal of Pharmaceutics**. 484, 131–137, 2015.
- FREITAS, J.V.; GASPAR L.R. Photosafety screening of apigenin, chrysin and beta-carotene for UVA and VIS protection. submitted to **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, 2016.
- FURBINO, L. E.; GODINHO, V. M.; SANTIAGO, I. F.; PELLIZARI, F. M.; ALVES, T. M. A.; ZANI, C. L.; POLICARPO, A. S. JUNIOR; ROMANHA, A. J.; CARVALHO, A. G. O.; GIL, L. H. V.G.; ROSA, C. A.; MINNIS, A. M.; ROSA, L. H. - Diversity Patterns, Ecology and Biological Activities of Fungal Communities Associated with the Endemic Macroalgae Across the Antarctic Peninsula, **Microb Ecol**, 67:775–787; 2014.
- GAMBOA, M.A.; BAYMAN, P. Communities of endophytic fungi in leaves of a tropical timber tree (*Guarea guidonia*: Meliaceae), **Biotropica**. p. 352-360, 2001.
- GAMMONE, M. A.; RICCIONI, G.; D’ORAZIO, N.; Marine Carotenoids against Oxidative Stress: Effects on Human Health, **Marine Drugs** 13, 6226-6246, 2015.
- GASPAR, L.R.; MAIA CAMPOS, P.M.B.G. Evaluation of the photostability of different UV filters associations in a sunscreen; **International Journal of Pharm**, v. 307, n. 2, p. 123-128, 2006.
- GASPAR, L.R.; THARMANN, J.; MAIA CAMPOS, P.M.B.G.; LIEBSCH, M. Skin phototoxicity of cosmetic formulations containing photounstable UV-filters and vitamin A palmitate, **Toxicology in Vitro**, v. 27, p. 418-425, 2013.
- GIBBONS, SIMON, An Introduction to Planar Chromatography and Its Application to Natural Products Isolation, chapter 6, **Natural Products Isolation**, Third Edition, Humana Press, p 116-153, 2012.

- GODINHO, V.M.; FURBINO, L.E.; SANTIAGO, I.F.; PELLIZZARI, F.M.; YOKOYA, N.S.; PUPO, D.; ALVES, T.M.A.; JUNIOR, P.A.S.; ROMANHA, A.J.; ZANI, C.L.; CANTRELL, C.L.; ROSA, C.A.; ROSA, L.H.; Diversity and bioprospecting of fungal communities associated with endemic and cold-adapted macroalgae in Antarctica. **The ISME Journal**, 7,1434–1451, 2013.
- GUNATILAKA, A.A.L. Natural products from plant-associated microorganisms: distribution, structural diversity, bioactivity, and implications of their occurrence; **Journal of Natural Products**. v. 69; p. 509-526; 2006.
- HOOG, G. S. V.; VICENTE, R. B.; CALIGIORNE, S.; KANTARCIOGLU, K.; TINTELNOT, A. H. G.; VAN DEN ENDE AND G. HAASE; Species diversity and polymorphism in the *Exophiala spinifera* clade containing opportunistic black yeast-like fungi. **J. Clin. Microbiol.** 41: 4767 – 4778, 2003.
- HOYER, K., KARSTEN, U.; WIENCKE, C.; Induction of sunscreen compounds in Antarctic macroalgae by different radiation conditions. **Marine Biology**, 141, 619–627. 2002
- HWANG, H.; CHEN, T.; NINES, R.G.; SHIN, H.C.; STONER, G.D. Photochemoprevention of UVB-induced skin carcinogenesis in SKH-1 mice by brown algae polyphenols **International Journal of Cancer**, 119, 2742–2749, 2006.
- INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA (INCA),  
acesso em 11 de fevereiro de 2016:  
[http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/pele\\_ nao\\_melano ma](http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/pele_ nao_melano ma)
- KADEKARU, T; TOYAMA, H.; YASUMOTO, T.; Safety evaluation of fucoxanthin purified from *Undaria pinnatifida*, **Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi**, vol.55, no.6, pp.304–308, 2008.
- KAIN, J. M., The seasons in the subtidal. **British Phycological Journal**, 24: 203-215 1989.
- KANDÁROVÁ, H. Evaluation and Validation of Reconstructed Human Skin Models as Alternatives to Animal Tests in Regulatory Toxicology. 158p. PhD Thesis - Department of Biology, Chemistry and Pharmacy - Freie Universität Berlin, Berlin, 2006
- KEJLOVÁ, K., JÍROVÁ, D., BENDO VÁ, H., KANDÁROVÁ, H., WEIDENHOFFER, Z., KOLÁROVÁ, H., LIEBSCH, M., Phototoxicity of bergamot oil assessed by in vitro techniques in combination with human patch tests. **Toxicology In Vitro** 21, 1298–1303, 2007.
- KENNY, O.; O'CALLAGHAN, Y.; O'CONNELL, N. M., MCCARTHY, F. O.; MAGUIRE, A. R.; O'BRIEN N. M.; Oxidized Derivatives of Dihydrobrassicasterol: Cytotoxic and Apoptotic Potential in U937 and HepG2 Cells. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**., 60, 5952–5961, 2012.
- KIM, SE-KWON, Marine cosmeceuticals; **Journal of Cosmetic Dermatology**, 13, 56—67, 2013.

- KJER, J., A. DEBBAB, A.H. ALY AND P. PROKSCH. Methods for isolation of marine-derived endophytic fungi and their bioactive secondary products. **Nature Protocols**. 5: 479 – 490. 2010.
- KOCKLER, J.; OELGEMÖLLER, M.; ROBERTSON, S.; GLASS, B. D.; Photostability of sunscreens, **Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews**, 13 91–110, 2012.
- KOGEJ, T.; GOSTINCAR, C.; VOLKMANN, M.; GORBUSHINA, A. A.; GUNDE-CIMERMAN, N.; Mycosporines in extremophilic fungi—novel complementary osmolytes? **Environmental Chemistry**., 3, 105–110, 2006.
- KUCZYNSKA, P.; JEMIOLA-RZEMINSKA, M.; STRZALKA, K.; Photosynthetic Pigments in Diatoms; **Marine Drugs**, 13, 5847-5881, 2015.
- LIEBSCH, M.; BARRABAS, C.; TRAUE, D.; SPIELMANN, H.; Development of a new in vitro test for dermal phototoxicity using a model of reconstituted human epidermis. **ALTEX**., v.14, n.4, p.165-174. 1997.
- LIEBSCH, M.; SPIELMANN, H. INVITTOX Protocol No. 78: 3T3 NRU Phototoxicity Assay. European Commission DG-JRC, ECVAM, SIS Database, 1998. Last update October 2002. <<http://ecvamsis.jrc.it/invittox/static/index.html>>.
- LIEBSCH, M.; SPIELMANN, H.; PAPE, W.; KRUL, C.; DEGUERCY, A.; ESKES, C.; UV-induced effects, **Alternatives to Laboratory Animals**, v.33, p.131-146, 2005.
- LIEBSCH, M.; TRAUE, D; BARRABAS, C.; SPIELMANN, H. et al. Prevalidation of the Epiderm phototoxicity test. **Alternatives to Laboratory Animals**, v.72, p.301, 1999.
- LIU, X.; DONG, M.; CHEN, X.; JIANG, M.; LV, X.; YAN, G.; Antioxidant activity and phenolics of an endophytic *Xylaria* sp. from *Ginkgo biloba*, **Food Chemistry**, v. 105, p. 548-554, 2007.
- LIU, X.; DONG, M.; CHEN, X.; JIANG, M.; LV, X.; ZHOU, J.; Antimicrobial activity of an endophytic *Xylaria* sp. YX-28 and identification of its antimicrobial compound 7-amino-4-methylcoumarin. **Applied Microbiology and Biotechnology**, vol. 78, no. 2, pp. 241–247, 2008.
- MACIEL, O. M. C., Screening visando avaliar o potencial fotoprotetor de algas marinhas e fungos endofíticos associados Dissertação (Mestrado), Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, USP, 2016.
- MADDODI, N.; JAYANTHY, A.; SETALURI, V., Shining Light on Skin Pigmentation: The Darker and the Brighter Side of Effects of UV Radiation, **Photochemistry and Photobiology**, 88(5): 1075–1082, 2012.
- MANCEBO, S. E.; HU, J. Y.; WANG, S. Q.; Sunscreens: A Review of Health Benefits, Regulations, and Controversies, **Dermatology Clinic**, 32 427–438, 2014.
- MARIONNET, C., TRICAUD, C. and BERNERD, F., Exposure to Non-Extreme Solar UV Daylight: Spectral Characterization, Effects on Skin and Photoprotection, **International Journal of Molecular Sciences**, 16, 68-90, 2015.



- MARTINS, A; VIEIRA, H.; GASPAR, H; SANTOS, S.; Marketed Marine Natural Products in the Pharmaceutical and Cosmeceutical Industries: Tips for Success; **Marine Drugs**, 12, 1066-1101. 2014.
- MASCHEK, J. L.; BUCHER, C. J.; OLPHEN, A.V., AMSLER, C .D.; MCCLINTOCK, J. B.; BAKER, B. J., The Pursuit of Potent Anti-influenza Activity from the Antarctic Red Marine Alga *Gigartina skottsbergii*. The Biological Activity of Phytochemicals, **Recent Advances in Phytochemistry** Vol. 41, 1-12, 2011.
- MASLIN, D. L.: Do sunscreens protect us? - **International Journal of Dermatology**, 53, 1319–1323, 2014.
- MAVERAKIS, E.; MIYAMURA, Y.; BOWEN, M. P.; CORREA, G.; ONO, Y.; GOODARZI, H.; Light, Including Ultraviolet; **Journal of Autoimmunity**. May ; 34(3): J247–J257, 2010.
- MORI, K.; OOI, T.; HIRAOKA, M. OKA, M.; HAMADA, H.; TAMURA, M.; KUSUMI, T.; Fucoxanthin and Its Metabolites in Edible Brown Algae Cultivated in Deep Seawater, **Marine Drugs**, 2, 63-72, 2004.
- NGUYEN, KH; CHOLLET-KRUGLER, M.; GOUAULT, N.; TOMASI, S.: UV-protectant metabolites from lichens and their symbiotic partners. **Natural Products Rep.**, 2013, 30, 1490
- OECD (2004), Test No. 432: In Vitro 3T3 NRU Phototoxicity Test, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing.
- OLIVEIRA, E.C.; ABSHER T.M.; PELLIZZARI, F.M.; OLIVEIRA, M.C.: The seaweed flora of Admiralty Bay, King George Island, Antarctic. **Polar Biology**, 132: 1630–1647, 2009.
- PALLELA, R.; NA-YOUNG, Y. AND KIM, SE-K., Anti-photoaging and Photoprotective Compounds Derived from Marine Organisms **Marine Drugs** 2010, 8, 1189-1202.
- PARIS, C.; LHIAUBET-VALLET, V.; JIMÉNEZ, O.; TRULLAS, C.; MIRANDA, M.A. A Blocked Diketo Form of Avobenzone: Photostability, Photosensitizing Properties and Triplet Quenching by a Triazine-derived UVB-filter. **Photochemistry and Photobiology** v.85, n.1, p.178-184, 2009.
- PASQUALETTI, C. B., Análise de pigmentos, proteínas solúveis e carboidratos em espécie de Rhodophyta das regiões antárticas e subantárticas, Dissertação (Mestrado), Instituto de Botânica da Secretaria do Estado do Meio Ambiente, 2015.
- PFEIFER, G.P.; BESARATINIA, A.; UV wavelength-dependent DNA damage and human non-melanoma and melanoma skin cancer. **Photochemistry and Photobiology** Sci.11,90–97 2012.
- QUARTINO, M.L., KLOSER, H., SCHLOSS, I.R. & WIENCKE, C.; Biomass and associations of benthic marine macroalgae from the inner Potter Cove (King George Island, Antarctica) related to depth and substrate. **Polar Biology**, 24, 349–355,2001.

- RAUTENBERGEN, R.; WIENCKE, C. ; BISCHOF, K. Acclimation to UV radiation and antioxidative defence in the endemic Antarctic brown macroalga *Desmarestia anceps* along a depth gradient. **Polar Biology**, 36(12), 2013.
- RICCIONI, G.; D'ORAZIO, N; FRANCESCHELLI, S.; SPERANZA, L.; Marine carotenoids and cardiovascular risk markers; **Marine Drugs**, vol.9,no.7,pp.1166–1175,2011.
- RIFKIN, R. F.; DAYET, L.; QUEFFELEC, A.; SUMMERS, B.; LATEGAN, M.; D'ERRICO, F., Evaluating the Photoprotective Effects of Ochre on Human Skin by In Vivo SPF Assessment: Implications for Human Evolution, Adaptation and Dispersal, **PLOS ONE**, September 9, 2015.
- ROBL, D., et al. Enhancing of sugar cane bagasse hydrolysis by *Annulohyphomyces stygium* glycohydrolases. **Bioresource Technology** v.177, p. 247-254, 2015.
- RUKACHAISIRIKUL, V.; KHAMTHONG, N.; SUKPONDMA, Y.; PAKAWATCHAI, C.; PHONGPAICHIT, S.; SAKAYAROJ, J.; KIRTIKARA, K. An Cyclochalasin Derivative from the Marine-Derived Fungus *Xylaria* sp. PSU-F100. **Chem. Pharm. Bull.** 2009, 57, 1409–1411.
- SHAATH, N.A.; Ultraviolet Filters. **Photochem Photobiol Sci**, v.9, p.464-469, 2010.
- SHEU, J.H.; HUANG, S.Y.; DUH, C.Y.: Cytotoxic Oxygenated Desmosterols of the Red Alga *Galaxaura marginata*. **Journal Nut. Prod.** 1996, 59, 23-26.
- SHICK, J.M. & DUNLAP, W.C. 2002. Mycosporine-like amino acids and related gadusols: biosynthesis, accumulation, and UV-protective functions in aquatic organisms. **Annual Review of Physiology**, 64, 223–262.
- SIEZEN, R. J.; Genomics update: Microbial sunscreens; Society for Applied Microbiology and Blackwell Publishing Ltd, **Microbial Biotechnology**, 4, 1–7, 2011.
- SINGH, O.V.; GABANI, P.; Extremophiles: radiation resistance microbial reserves and therapeutic implications. Division of Biological and Health Sciences, University of Pittsburgh, Bradford, PA, USA, p.1365-2672, 2011.
- SOLANO, F.; BRIGANTI, S.; PICARDO M.; GHANEM, G.: Hypopigmenting agents: an updated review on biological, chemical and clinical aspects. **Pigment Cell Res.**19; 550–571, 2006.
- SPIELMANN, H.; BALLS, M.; DUPUIS, J.; PAPE, W. J.; DESILVA, O.; HOLZHUTTER, H. G.; GERBERICK, F.; LIEBSCH, M.; LOWELL, W. W.; PFANNENBECKER, U. A study on UV filters chemicals from Annex-VII of European Union Directive 76/768/EEC, in the *in vitro* 3T3 NRU phototoxicity test. **Alternative to laboratory Animals**, 26, 67-708. 1998.
- SURUP, F., et al. Cohaerins G-K, azaphilone pigments from *Annulohyphomyces cohaerens* and absolute stereochemistry of cohaerins C-K. **Phytochemistry** v. 95, p. 252-258, 2013.
- TAVARES, R. S. N.; FONTANEZI B.B.; BELINI, N.C.; OLIVEIRA, A. L. L., MACIEL O. M. C.; PEREIRA, K. C.; DEBONSI, H. M.; GASPAR L.R.: Photoprotective potential of extracts and fractions from endophytic fungi *Xylaria* sp and the algae *Pterocladia*.

- SINPOSPq**, Symposium, 2014 (p. 98).
- THOMAS, N. V. AND KIM, S-K.; Beneficial Effects of Marine Algal Compounds in Cosmeceuticals; **Marine Drugs**, 11, 146-164. 2013.
- TONELLO, A.; POLI, G.; Serum phytosterols not only from dietary intake. **Brazilian Journal Nutr.**, 96. 791–792, 2006.
- URIKURA, I.; SUGAWARA, T.; HIRATA, T.; Protective effect of fucoxanthin against UVB-induced skin photoaging in hairless mice, **Biosci. Biotechnol. Biochem**, 75, 757–760, 2011.
- VALENTIN, Y. Y.; MACROALGAS MARINHAS E BIOTECNOLOGIA, COMPANHEIRAS INSEPARÁVEIS; **Anais da 62<sup>a</sup> Reunião Anual da SBPC**, Natal, RN, Julho/2010.
- WHITEHEAD, K.; HEDGES J.I.. Photodegradation and photosensitization of mycosporine-like amino acids. **Journal of Photochemistry and Photobiology B Biol.** 80:115–121. 2005.
- WIENCKE, C. Seasonality of brown macroalgae from Antarctica - a long term culture study under fluctuating Antarctic daylength. **Polar Biology** 10:601-607. 1990.
- XIA, S.; WANG, K. E.; WAN, L.; LI, A.; HU, Q.; ZHANG, C. Production, Characterization, and Antioxidant Activity of Fucoxanthin from the Marine Diatom *Odontella aurita*, **Marine Drugs** 2013, 11, 2667-2681.
- ZHANG, H.; DENG, Z.; GUO, Z.; PENG, Y.; HUANG, N.; HE, H.; TU, X.; ZOU, K.: Effect of Culture Conditions on Metabolite Production of *Xylaria* sp. **Molecules**, 20, 7940-7950. 2015.
- ZHANG, HUI; TANG, Y.; ZHANG, Y.; ZHANG, S.; QU, J.; WANG, X.; KONG, R.; HAN, C.; LIU, Z.. Fucoxanthin: A Promising Medicinal and Nutritional Ingredient Hindawi Publishing Corporation **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, Article ID 723515, 10 pages. 2015.
- ZHANG, Q.; XIAO, J.; SUN, QQ; QIN, JC; PESCIPELLI, G.; GAO, JM.: Characterization of Cytochalasins from the Endophytic *Xylariasp.* and Their Biological Functions. **Journal Agric. Food Chemistry**, 62, 10962–10969. 2014.