

BIOPROSPECÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DE EXTRATO LIPOFÍLICO DA MACROALGA SUB-ANTÁRTICA DURVILLAEA ANTARCTICA

JÚLIA BALOTA¹; LUCAS BERNEIRA¹; SAMANTHA DE FREITAS¹; MARCO DOS SANTOS¹; THAIS RODEGHIERO¹; CLAUDIO DE PEREIRA²

¹Universidade Federal de Pelotas, Grupo de Pesquisa Bioforense - juliabalota@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas, Grupo de Pesquisa Bioforense – claudiochemistry@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

As macroalgas são organismos marinhos conhecidos pelo alto potencial biossintético de compostos bioativos. De acordo com a sua pigmentação assim como caracteres morfológicos e anatômicos, as macroalgas podem ser subdivididas entre os filos Rodophyta (algas vermelhas), Chlorophyta (algas verdes) e Ochrophyta (algas pardas) (KUMAR et al., 2009). A alta capacidade de sobrevivência desses organismos aos ambientes inóspitos facilitou sua adaptação a região Sub-Antártica. Esse local compreende principalmente a porção sudoeste do continente sul-americano é caracterizado por baixas temperaturas, forte sazonalidade e fotoperíodo limitado (GOMEZ et al., 1997).

As macroalgas produzem uma ampla diversidade de substâncias bioativas na forma de metabolitos primários e secundários com a finalidade de crescer, se desenvolver e reproduzir. Os metabólitos primários são conhecidos por serem macromoléculas essenciais aos seres vivos e compreendem principalmente os lipídeos (MARTINS et al., 2016), glicídios assim como proteínas. Por outro lado, os metabolitos secundários estão relacionados com diversas classes de compostos como, por exemplo, esteroides, terpenos, ceras, álcoois os quais são produzidos por determinados organismos em resposta aos fatores abióticos presentes no ambiente (SANTOS et al., 2015; GOMEZ et al., 1997).

Os metabólitos secundários de macroalgas são conhecidos por apresentarem um alto potencial de substâncias biologicamente ativas e que servem como base para a síntese de um amplo número de fármacos (SANTOS et al., 2015). Todavia, a taxa de biossíntese de metabólitos secundários varia de acordo com a espécie, a localização geográfica e fatores abióticos como temperatura, luz e nutrientes aos quais os organismos são submetidos. A produção destes compostos nas algas é uma forma de defesa para manter sua sobrevivência e integridade frente às grandes variações climáticas (SANTOS et al., 2015).

Pesquisas anteriores indicam que extratos de macroalgas possuem diversas atividades biológica, tais como, antioxidante, antimicrobiana, antiviral importantes para a indústria farmacêutica, alimentar e biotecnológica. Todavia, existem poucos trabalhos sobre compostos bioativos em macroalgas Sub-Antárticas. Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi a extração e identificação por Cromatografia Gasosa-Espectrometria de Massas (GC-MS) dos constituintes do extrato lipofílico da macroalga Sub-Antártica *Durvillaea antarctica*.

2. METODOLOGIA

A macroalga *D. antarctica* na fase reprodutiva foi coletada em Fevereiro de 2017 na região de Seno Otway (Punta Arenas, Chile). Inicialmente, 5 g da biomassa algal de *D. antarctica* foi submetida à extração por Soxhlet com diclorometano por 4 h, sendo posteriormente realizado a evaporação do solvente.

A amostra foi hidrolisada seguindo a metodologia de Santos et al. (2015), onde 10 mg do extrato lipofílico foi dissolvido em 10 mL de solução de hidróxido de sódio 0,5 M e solução de metanol/água 50% (v/v) e refluxo a 100 °C durante 1h. Subsequentemente, a solução foi resfriada e acidificada com uma solução de ácido clorídrico 1 M até o pH 2. Por fim, a amostra foi extraída com 30 mL de diclorometano (3x10 mL) e a fase orgânica evaporada em rotaevaporador.

O extrato hidrolisado foi redissolvido em 200 µL de diclorometano e derivatizado a partir da adição de 100 µL de piridina e 100 µL de triclorometilsilano seguido por aquecimento a 70 °C durante 30 min. A solução resultante foi analisada em um GC-MS equipado com uma coluna capilar Rtx-5MS e hélio como gás de arraste. A rampa de temperatura iniciou-se a 80 °C mantendo por 5 min de forma a aumentar por 4 °C.min⁻¹ até 260 °C e aumentando 2 °C.min⁻¹ até a temperatura final de 285 °C a qual foi mantida durante 8 min. A identificação dos compostos foi realizada através da biblioteca NIST-08.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O processo de extração resultou em 21,20 ± 3,67 mg de extrato bruto, representando aproximadamente 0,42 ± 0,07 % de rendimento. Este valor ficou abaixo ao observado na literatura que varia entre 1% a 0,25% (KUMARI et al., 2010; SANTOS et al., 2016). Este baixo rendimento na extração pode ser explicado pela influência dos fatores abióticos a qual alga está exposta e que influenciam diretamente na proporção de metabólitos, bem como, a diferença entre as espécies estudadas e a fase de desenvolvimento em que este organismo se encontra.

A análise cromatográfica indicou a presença de 132 compostos dos quais 61 foram identificados (**Tabela 1**) e que incluem ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poli-insaturados, assim como, diácidos, álcoois, terpenos, hidrocarbonetos e esteróis.

Tabela 1. Perfil do extrato lipofílico (% área) de *D. antarctica* reprodutiva da Região de Magalhães, Chile

Composto	Concentração (% de área)	Composto	Concentração (% de área)
Dietilacetamida	0.15	Ácido Hexadecenóico	2.18
Butoxietanol	0.02	Ácido Octadecenóico	12.85
Ácido Hexanóico	0.05	Ácido Heptadecanóico	0.26
2-Etil-3-Ácido	0.02	Octadecanol	0.02
Hidroxibutanóico			
Ácido Heptanóico	0.01	Fitol	1.71
Ácido Octanóico	0.05	Ácido	0.42
		Octadecatrienóico	
Ácido Fosfórico	0.02	Ácido	8.75
		Octadecadienóico	
Glicerol	0.03	Ácido Octadecanóico	1.13
Ácido Fenilacético	0.08	Ácido	10.13
		Eicosatetraenóico	
Ácido Nonanóico	0.03	Ácido Nonadecanóico	0.03
Ácido	0.03	Ácido Eicosadienóico	0.55
Hidroxiheptanóico			
Ácido Decanóico	0.03	Ácido Eicosanóico	0.45
Pentadecano	0.03	Ácido Docosenóico	0.07

Dihidroactinidiolida	0.02	Ácido Docosanóico	0.34
Dibutilfenol	0.02	Ácido	0.02
Hexadecano	0.01	Hidroxidecadióico	
Ácido Dodecanóico	0.10	Ácido Tetracosanóico	0.11
Heneicosano	0.02	Ácido Pentacosanóico	0.03
Ácido Tridecanóico	0.02	Hexacosanol	0.04
Ácido Tereftálico	0.26	Ácido Hexacosanóico	0.04
Ácido Nonadióico	0.09	Octacosanol	0.48
Ácido	0.15	Alpha-Tocopherol	0.02
Tetradecenóico		Colesterol	0.02
Ácido	10.23	Ácido	0.02
Tetradecanóico		Hidroxihaptacosanóico	
Tetracosano	0.01	Hidroximetilcolesterol	0.11
Ácido Decadióico	0.01	Triacontanol	0.27
Trimetilpentadecanol	0.04	Estigmasterol	22.40
Ácido	10.78	Dotriacontanol	0.05
Hexadecanóico			
Ácido	0.38	Diidrolanosterol	0.37
Pentadecanóico			
Hexadecanol	0.01	Lanosterol	0.09
Ácido Undecandióico	0.07	Não Identificado	14.27

A abundante variedade de metabolitos secundários na composição da alga pode estar ligada a fatores como as condições ambientais, a espécie da macroalga, assim como a fase de desenvolvimento. O extrato lipofílico de *D. antarctica* apresentou uma concentração abundante de ácidos graxos insaturados os quais são essenciais para a saúde humana, ou seja, não são produzidos pelo organismo. Nesse sentido, os ácidos graxos insaturados são de importância significativa para a saúde visto que participam de mecanismos fisiológicos com suas substâncias biologicamente ativas com funções de equilíbrio homeostático assim como do tecido cerebral e nervoso. Além disso, possuem atividades na redução e prevenção de doenças crônicas como, por exemplo, doenças cardiovasculares (SANTOS et al., 2017a).

Na análise cromatográfica foram detectados esteróis, principalmente o estigmasterol com 22,40 % do extrato bruto. Além disso, se observou diterpenos como, por exemplo, o fitol (1,71 %) já descrito na literatura para macroalgas (SANTOS et al., 2017b). Os diterpenos possuem atividades biológicas benéficas para a saúde humano dentre os quais se destaca atividade antioxidante, antifúngica, antimicrobiana, antiviral e antitumoral.

Paralelamente, foram identificados 7 álcoois alifáticos, já descritos na literatura (SANTOS et al. 2017b), os quais se encontraram principalmente na forma de octacosanol. O consumo de álcoois alifáticos de cadeia longa por ingestão dietética apresenta diminuição do colesterol da lipoproteína de baixa densidade (LDL) e aumento do colesterol da lipoproteína de alta densidade (HDL) (SANTOS et al., 2016), agindo como reguladores da homeostase no organismo humano.

O α -tocoferol foi encontrado na proporção de 0,02 %, sendo conhecido como na forma bioativa da vitamina E, o qual está ligado a prevenção de doenças cardiovasculares e manutenção do sistema imunológico. A presença de tocoferol assim como de outras classes de substâncias como, por exemplo, de diácidos e hidrocarbonetos também já foi descrita na literatura (SANTOS et al., 2016).

Cabe ressaltar, que uma grande quantidade de outros compostos foi encontrada no extrato de *D. antarctica*, porém não puderam ser caracterizadas através da biblioteca do equipamento.

4. CONCLUSÕES

Os resultados mostraram que a macroalga Sub-Antártica *D. antarctica* na fase reprodutiva, apresentou uma composição química em seu extrato lipofílico bastante complexa e diversificada na forma de ácidos graxos, esteroides, terpenos e álcoois. Cabe ressaltar ainda que foram observadas a presença de diversas classes de substâncias bioativas, evidenciando que esse organismo apresenta um proeminente potencial farmacológico e nutracêutico.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, P.B.; BARBOSA, M.; MATOS, R.P.; LOPES, G.; VINHOLES, J.; MOUGA, T.; VALENTÃO, P. Valuable compounds in macroalgae extracts. **Food Chemistry**, v.138, n.2-3, p.1819–1828, 2013.

GOMEZ, I.; WEYKAM, G.; KLOSER, H.; WIENCKE, C. Photosynthetic light requirements, metabolic carbon balance and zonation of sublittoral macroalgae from King George Island (Antarctica). **Marine Ecology Progress Series**, v.148, p.281-293, 1997.

KUMAR, N.J.I.; KUMAR, R.N.; BORA, A.; AMB, M. K.; CHAKRABORTHY, S. An evaluation of the pigment composition of eighteen marine macroalgae collected from Okha coast, Gulf of Kutch, India. **Our Nature**, v. 7, n. 1, p. 48-55, 2009.

KUMARI, P.; KUMAR, M.; GUPTA, V.; REDDY, C.R.K.; JHA, B. Tropical marine macroalgae as potential sources of nutritionally important PUFAs. **Food Chemistry**, v.120, p. 749–757, 2010.

MARTINS, R.M.; SANTOS, M.A.Z.; PACHECO, B.S.; MANSILLA, A.; ASTORGA-ESPAÑA, M^a.S.; SEIXAS, F.; PEREIRA, C.M.P. Fatty acid profile of the chlorophyta species from Chile's sub-Antarctic region. **Academia Journal of Scientific Research**, v.4, n.4, 93-98, 2016.

RAGONESE, C.; TEDONE, L.; BECCARIA, M.; TORRE, G.; CICHELO, F.; CACCIOLA, F.; DUGO, P.; MONDELLO, L. Characterisation of lipid fraction of marine macroalgae by means of chromatography techniques coupled to mass spectrometry. **Food Chemistry**, v.145, n.1, 932–940, 2014.

SANTOS, S.A.O.; VILELA, C.; FREIRE, C.S.R.; ABREU, M.H.; ROCHA, S. M.; SILVESTRE, A.J.D. Chlorophyta and Rhodophyta macroalgae: A source of health promoting phytochemicals. **Food Chemistry**, v.183, p.122–128, 2015.

SANTOS, M.A.Z.; COLEPICOLA, P.; PUPO, D.; FUJII, M.T.; PEREIRA, C.M.P.; MESKO, M.F. Antarctic red macroalgae: a source of polyunsaturated fatty acids. **Journal of Applied Phycology**, v.29, n.2, p.759-767, 2017a.

SANTOS, S.A., TRINDADE, S.S., OLIVEIRA, C.S., PARREIRA, P., ROSA, D., DUARTE, M.F., FERREIRA, I, CRUZ, M.T., REGO, A.M., ABREU, M.H., ROCHA, S.M., SILVESTRE, A.J.D. Lipophilic Fraction of Cultivated *Bifurcaria bifurcata* R. Ross: Detailed Composition and In Vitro Prospection of Current Challenging Bioactive Properties. **Marine Drugs**, v.15, n.11, 340-353, 2017b.

SANTOS, S.A., OLIVEIRA, C.S., TRINDADE, S.S., ABREU, M.H., ROCHA, S.S., SILVESTRE, A.J.D. Bioprospecting for lipophilic-like components of five Phaeophyta macroalgae from the Portuguese coast. **Journal of Applied Phycology**, v.28, n.5, 3151-3158, 2016.