

BIOPROSPECÇÃO E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE EXTRATO LIPOFÍLICO DA MACROALGA ANTÁRTICA *Desmarestia confervoides*

THALIA MACHADO¹; LUCAS BERNEIRA¹; NATALIA GOULART¹; NATHALIA
LIMA¹; CAROLINA VERGARA¹; CLAUDIO PEREIRA²

¹Universidade Federal de Pelotas - thalia_machado1998@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas - claudiochemistry@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

As macroalgas são organismos marinhos fotossintetizantes que possuem grande capacidade adaptativa possibilitando assim a sua sobrevivência nas mais diversas localidades como é o caso da região Antártica conhecida por apresentar temperaturas extremamente baixas (GOMEZ et. al., 1997). Esses organismos encontram-se subdivididos em três filos de acordo com a sua pigmentação e fatores anatômicos, sendo eles: Rodophyta, Chlorophyta e Ochrophyta representadas pelas algas vermelhas, verdes e pardas, respectivamente (AZEVEDO; NAUER, 2012).

Uma vasta gama de substâncias bioativas são produzidas pelas macroalgas na forma de metabólitos primários e metabólitos secundários que influenciam na atividade celular e nos mecanismos fisiológicos da alga. Os metabólitos primários são aqueles envolvidos nos processos primários, como a fotossíntese, divisão celular e reprodução das algas (SANTOS et al., 2015). Já os metabólitos secundários são aqueles sintetizados em resposta a situações extremas, como alterações na luminosidade ou na temperatura, ataques de patógenos, predadores e deficiências nutricionais, sendo produzidos conforme a necessidade apresentada, variando de acordo com a localização geográfica da macroalga, assim como os fatores abióticos enfrentados pela mesma (BERNEIRA et al., 2020).

A produção de todas essas substâncias bioativas pelas algas marinhas faz com que elas sejam utilizadas em grande escala pela indústria farmacêutica e alimentar. Isso se dá devido ao fato de estudos apontarem que as algas podem trazer diversos benefícios à saúde, já que apresentam atividades anti-inflamatórias, anti-ulcerativas, antivirais, antifúngicas, antioxidantes e anticancerígenas (PEREIRA et al., 2016). Portanto, são esses fatores que fazem com que as macroalgas sejam comercializadas pela indústria farmacêutica, comumente na forma de cápsulas, e pela indústria alimentar como alimentos funcionais e nutracêuticos, já que promovem a saúde e previnem doenças (BERNEIRA et al., 2020).

Apesar de todos os benefícios e possíveis usos que as macroalgas apresentam, o número de estudos sobre as espécies da região da Antártica ainda é baixo especialmente sobre a macroalga evidenciada e estudada no trabalho aqui descrito. Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi a extração e a identificação por Cromatografia Gasosa-Espectrometria de Massas (GC-MS) dos constituintes do extrato lipofílico e avaliação da atividade antioxidante da macroalga Antártica *Desmarestia confervoides*.

2. METODOLOGIA

2.1 BIOPROSPECÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS

A macroalga *D. confervoides* foi coletada na Península Antártica entre os meses de novembro e dezembro de 2015. Inicialmente foi realizada a extração de 5 g da fração lipofílica da macroalga por intermédio de um aparelho Soxhlet utilizando *n*-hexano por um período de 6h sendo posteriormente realizado a evaporação do solvente. A **Figura 1** dispõe a macroalga *D. confervoides*.



FIGURA 1. Representação da macroalga *D. confervoides*.

A amostra foi hidrolisada seguindo a metodologia de SANTOS et al. (2015), onde 10 mg do extrato lipofílico e 10 mL de solução de hidróxido de sódio 0,5 M em solução de metanol/água 50% (v/v) foram constantemente misturados e submetidos a refluxo por 1h. Subsequentemente, a solução foi resfriada e acidificada com uma solução de ácido clorídrico 1 M até o pH 2. Além disso, as amostras foram extraídas três vezes com 5 mL de diclorometano. As camadas lipofílicas foram combinadas e secas sob pressão reduzida. Os extratos hidrolisados foram redissolvidos em 100 µL de clorofórmio e posteriormente derivatizados com 100 µL de N-metil-N- (trimetilsilil) -trifluoroacetamida e 100 µL de piridina sob 70 °C por 30 min. Os procedimentos foram realizados em triplicata (n = 3), e as soluções resultantes foram analisadas em um GC-MS equipado com uma coluna capilar Rtx-5MS e hélio como gás de arraste.

2.2 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Para avaliação da atividade antioxidante foi seguido o método de PELLATI et al. (2004) onde extratos lipofílicos nas concentrações de 1 mg.mL⁻¹, 0,500 mg.mL⁻¹, 0,250 mg.mL⁻¹ e 0,125 mg.mL⁻¹ foram misturados com 300 µL de solução metanólica do radical DPPH e 3 mL de metanol. Subsequentemente, foram incubadas em temperatura ambiente no escuro, por 15 min e analisadas por meios espectrofotômetros. Controles positivos foram realizados com ácido ascórbico nas mesmas concentrações das amostras testadas. Um branco analítico usando 300 µL de radical DPPH misturado com 2,7 mL de metanol também foi realizado. O experimento foi realizado em triplicata (n = 3).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A macroalga *D. confervoides* apresentou rendimento lipofílico de 0,356 ± 0,038% sendo que esse valor está dentro dos resultados relatados na literatura que apontam valores entre 0,12 ± 0,01% e 1,74 ± 0,08% (SANTOS et al. 2015; SANTOS et al. 2017). A avaliação da composição química do extrato lipofílico da macroalga apontou 24 compostos distintos (**Tabela 1**) que podem ser distribuídos como ácidos graxos (331,91 ± 10,79 mg.Kg⁻¹), esteróis (321,25 ± 30,13 mg.Kg⁻¹) álcoois (91,87 ± 30,07 mg.Kg⁻¹) e ácidos carboxílicos (38,90 ± 0,64 mg.Kg⁻¹), por exemplo.

TABELA 1. Perfil de extrato lipofílico (mg.kg⁻¹) de *D. confervoides* da região da Península Antártica.

Composto	Concentração (mg.kg ⁻¹)	Composto	Concentração (mg.kg ⁻¹)
----------	--	----------	--

Fucosterol	282.96 ± 29.02	Ácido tetradecanóico	28.93 ± 0.38
Ácido Octadecenóico	75.89 ± 1.55	Fitol	27.40 ± 1.08
2-Butoxietanol	56.37 ± 26.20	Ácido eicosatetraenóico	27.00 ± 11.41
Ácido 2-etilhexanoico	49.65 ± 6.32	Ácido octadecadienóico	26.67 ± 0.01
Ácido hexadecanóico	49.01 ± 6.18	Ácido nonanodioico	25.23 ± 0.38
		Outros	18.36 ± 0.61

Os ácidos graxos encontrados em grandes concentrações na macroalga *D. confervoides* desempenham papéis fundamentais como constituintes da membrana ou como armazenamento de energia em organismos marinhos (LI-BEISSON et al., 2019). Até onde se tem conhecimento, o perfil de ácidos graxos da *D. confervoides* não é descrito na literatura, contudo, representantes da mesma ordem apresentaram padrões semelhantes aos observados no trabalho aqui descrito (GRAEVE et al. 2020).

A presença de ácidos carboxílicos e dicarboxílicos que incluem, por exemplo, ácido hexanodioico, octanodioico, nonanodioico tem sido amplamente relatada em algas marinhas (SANTOS et al. 2017). Esses compostos têm sido associados a atividades biológicas, como ação antimicrobiana e tratamento da hiperpigmentação cutânea (FITTON; GOA, 1991). Por sua vez, o fucosterol foi o esteroide encontrado em maior quantidade na macroalga o que já havia sido relatado em pesquisas anteriores com outras algas pardas (PEREIRA et al. 2016). Os esteróides são conhecidos por suas atividades biológicas que incluem, por exemplo, antioxidante, antitumoral, antibacteriana, antiviral e antifúngica (BERNEIRA et al., 2020).

Somado a esses, diversos outros constituintes foram detectados na macroalga como, por exemplo, cetonas, aldeídos, hidrocarbonetos e aminoácidos, o que pode estar relacionado a diversos mecanismos bioquímicos dentro das algas necessários para a sobrevivência no continente Antártico. Esses compostos estão ligados à defesa contra agentes oxidantes e à luz ultravioleta bem como à sinalização química entre os indivíduos. (DE ALENCAR et al. 2017; BELGHIT et al. 2017)

A avaliação da atividade antioxidante dos extratos lipofílicos mostrou que *D. confervoides* inibiu 86,03 ± 1,47% do radical DPPH a 1 mg.mL⁻¹, apresentando 83,79 ± 2,12% de inibição para 0,500 mg.mL⁻¹ e 80,40 ± 1,94% para 0,250 mg.mL⁻¹. A menor capacidade antioxidante do extrato lipofílico foi observada em 0,125 mg.mL⁻¹ que apresentou 63,39 ± 0,49% de inibição do radical DPPH. Com isso, a *D. confervoides* apresentou maior capacidade antioxidante do que a indicada na literatura para outras macroalgas avaliadas por PAIVA et al. 2016. Isso pode ser explicado pelo fato de conter concentrações significantes de compostos relacionados com a atividade antioxidante como os ácidos octadecenóico e octadecadienóico bem como os fitoesteróides. (FERNANDES et al. 2017)

4. CONCLUSÕES

Os resultados mostraram que a macroalga da Antártica *D. confervoides* apresentou em seu extrato lipofílico uma composição química altamente diversificada e complexa. Evidencia-se também a presença de distintas classes de substâncias bioativas que se relacionam com a alta capacidade antioxidante

apresentada pela macroalga indicando que possui um amplo potencial farmacológico e nutracêutico.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AZEVEDO, C. A. A.; NAUER F. Biodiversidade e Ecologia de Macroalgas Marinhas Brasileiras. **Botânica no inverno**, p. 97-103, 2012.

BELGHIT, I.; RASINGER, J. D.; HEESCH, S.; BIANCAROSA, I.; LILAND, N.; TORSTENSEN, B.; WAAGBO, R.; LOCK E. J.; BRUCKNER, C. G. In-depth metabolic profiling of marine macroalgae confirms strong biochemical differences between brown, red and green algae. **Algal research**, v.26, p.240-249, 2017.

BERNEIRA, L., DA SILVA, C., POLETTI, T., RITTER, M., DOS SANTOS, M.A.Z., COLEPICOLO, P., DE PEREIRA, C.M.P. Evaluation of the volatile composition and fatty acid profile of seven Antarctic macroalgae. **Journal of Applied Phycology**, 2020.

DE ALENCAR, D. B.; DINIZ, J. C.; ROCHA, S. A. S.; PIRES-CAVALCANTI, K. M. S.; FREITAS, J. O.; NAGANO, C. S.; SAMPAIO, A. H.; SAKER-SAMPAIO, S. Chemical composition of volatile compounds in two red seaweeds, *Pterocladia capillacea* and *Osmundaria obtusiloba*, using static headspace gas chromatography mass spectrometry. **Journal of Applied Phycology**, v.29, n.3, p.1571-1576, 2017.

FERNANDES, F.; ANDRADE, P. B.; FERRERES, F.; GIL-IZQUIERDO, A.; SOUSA-PINTO, I.; VALENTÃO, P. The chemical composition on fingerprint of *Glandora diffusa* and its biological properties. **Arabian Journal of Chemistry**, v.10, n.5, p.583-595, 2017.

FITTON, A.; GOA, K. L. Azelaic acid. **Drugs**, v.41, n.5, p.780-798, 1991.

GRAEVE, M.; KATTNER, G.; WIENCKE, C.; KARSTEN, U. Fatty acid composition of Arctic and Antarctic macroalgae: indicator of phylogenetic and trophic relationships. **Marine Ecology Progress Series**, v.231, p.67-74, 2002.

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.

LI-BEISSON, Y.; THELEN, J. J.; FEDOSEJEVS, E.; HARWOOD, J. L. The lipid biochemistry of eukaryotic algae. **Progress in lipid research**, v.74, p.31-68, 2019.

PAIVA, L.; LIMA, E.; NETO, A. I.; MARCONE, M.; BAPTISTA, J. Health-promoting ingredients from four selected Azorean macroalgae. **Food Research International**, v.89, p.432-438, 2016.

PELLATI, F.; BENVENUTI, S.; MAGRO, L.; MELEGARI, M.; SORAGNI, F. Analysis of phenolic compounds and radical scavenging activity of *Echinacea* spp. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.35, n.2, p.289-301, 2004.

PEREIRA, C. M. P.; NUNES, C. F. P.; ZAMBOTTI-VILLELA, L.; STREIT, N. M.; DIAS, D.; PINTO, E.; GOMES, C. B.; COLEPICOLO, P. Extraction of sterols in brown macroalgae from Antarctica and their identification by liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. **Journal of Applied Phycology**, v.29, n.2, p.751-757, 2016.

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.; COLEPICOLO, 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, 2017.