

UNILEÃO
CENTRO UNIVERSITÁRIO LEÃO SAMPAIO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

LAVILE LERRISON LIMA SILVA

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE *IN VITRO* E POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE
UM POLISSACARÍDEO SULFATADO EXTRAÍDO DA ALGA *Pterocladia*
beachia.**

Juazeiro do Norte – CE
2018

LAVILE LERRISON LIMA SILVA

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE *IN VITRO* E POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE
UM POLISSACARÍDEO SULFATADO EXTRAÍDO DA ALGA *Pterocladia*
beachia.**

Artigo Científico apresentado à Coordenação do Curso de Graduação em Biomedicina do Centro Universitário Leão Sampaio, em cumprimento às exigências para a obtenção do grau de bacharel em biomedicina.

Orientador: Prof^a Ma. Ana Luiza de Aguiar Rocha Martin

LAVILE LERRISON LIMA SILVA

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE E POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE UM
POLISSACARÍDEO SULFATADO EXTRAÍDO DA ALGA *Pterocladia beachia*.**

Artigo Científico apresentado à Coordenação do Curso de Graduação em Biomedicina do Centro Universitário Leão Sampaio, em cumprimento às exigências para a obtenção do grau de bacharel em Biomedicina.

Orientador: Prof^a Ma. Ana Luiza de Aguiar Rocha Martin

Data de aprovação: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof^a Ma. Ana Luiza de Aguiar Rocha Martin

Orientador

Prof^a Dra. Fabíola Fernandes Galvão Rodrigues

Examinador 1

Prof. Dr. Jaime Ribeiro Filho

Examinador 2

AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE E POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE UM POLISSACARÍDEO SULFATADO EXTRAÍDO DA ALGA *Pterocladia beachiea*.

Lavile Lerrison Lima Silva¹, Ana Luiza de Aguiar Rocha Martin²

RESUMO

O presente trabalho avaliou a toxicidade e a atividade antioxidante de um polissacarídeo extraído da espécie de alga *Pterocladia beachiea*, esta é uma macroalga vermelha marinha, pertencente ao reino Plantae e filo Rhodophyta que contém polissacarídeos sulfatados (PS). A estes P.S. já foram atribuídas atividades anticoagulante, anti-inflamatória e antibacteriana, caracterizando potencial ativo aos P.S. A toxicidade foi avaliada através do bioensaio com microcrustáceos de *Artemia salina* em que buscou-se a CL₅₀, já a atividade antioxidante foi testada através do método do sequestro do radical livre estável 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH), com análise estatística ANOVA pós-teste. Foi constatado que a CL₅₀ do polissacarídeo sulfatado foi de 23,15 µg/mL. Esse resultado foi considerado tóxico (CL₅₀<1000µg/mL) e corroborou com a literatura que relata baixas CL₅₀ em algas vermelhas. Houve atividade antioxidante em todas as concentrações testadas, sendo que IC₅₀ foi de 7,79 µg/mL, o que divergiu da literatura que demonstra valores de IC₅₀ altos em PS extraído de algas. Nesse sentido se fornece suporte para os demais estudos ainda em realização na espécie *Pterocladia beachiea*, auxiliando a traçar-se perfil farmacológico do polissacarídeo sulfatado em estudo.

Palavras-chave: Algas. Antioxidante. Toxicidade.

EVALUATION OF *IN VITRO* TOXICITY AND ANTIOXIDANT POTENTIAL OF A SULPHATE POLYSACCHARID EXTRACTED FROM THE ALGAE *Pterocladia beachiea*

ABSTRACT

The present work evaluated the toxicity and antioxidant activity of a polysaccharide extracted from the algae species *Pterocladia beachiea*, this is a marine red macroalgae belonging to the kingdom Plantae and Rhodophyta phylum that contains sulphated polysaccharides (SP). These have already been attributed anticoagulant activities, anti-inflammatory and antibacterial, characterizing active potential to the SP. the toxicity was evaluated through bioassays with *Artemia salina* microcrustaceans in which the LC₅₀ was sought, and the antioxidant activity was tested using the stable free radical sequestration method 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazila (DPPH), with subsequent ANOVA statistical analysis. It was found that the LC₅₀ of the sulphated polysaccharide was 23,15 µg/mL, This result was considered toxic (LC₅₀ <1000µg / mL) and corroborated with the literature reporting low LC₅₀ in red algae. There was antioxidant activity at all concentrations tested, with IC₅₀ being 7.79 µg / mL, which diverged from the literature that shows high IC₅₀ values in algae SP.

¹Discente, Centro Universitário Doutor Leão Sampaio, lavile07@hotmail.com

²Docente, Mestra, Centro Universitário Doutor Leão Sampaio, analuiza@leaosampaio.edu.br

In this sense, support is provided for other studies still underway in the species *Pterocladia beachiae*, helping to trace the pharmacological profile of the sulfated polysaccharide under study.

Key-words: Algae. Antioxidant. Toxicity.

1 INTRODUÇÃO

O uso de produtos naturais tem histórico milenar, sendo os produtos de origem vegetal, como folhas e ervas usados desde tempos remotos para fins medicinais (FIRMO et al., 2012; VIEGAS; BOLZANI; BARREIRO, 2006). Os cidadãos dos países em desenvolvimento, principalmente das regiões da Ásia, América Latina, África e Oriente médio, fazem o uso de produtos naturais primariamente para resolução de enfermidades, no entanto esse uso não se restringe a produtos naturais de origem vegetal, visto que, os de origem animal e mineral também são fontes de moléculas bioativas (DAM, 2012; BERTI; PACHECO; ROCHA, 2015; WHO, 2011).

As algas, são organismos talófitos tidos como fontes de importantes moléculas bioativas, tais como polissacarídeos sulfatados (PS), os quais podem chegar a constituir até 70% do extrato seco (MCCANDLESS; CRAIGIE, 1979) e são bastante estudados atualmente. Os PS possuem cadeias de monossacarídeos que se repetem e possuem radicais sulfatos em sua estrutura.(CÁSSARO; DIETRICH, 1977) Em algas vermelhas os PS se apresentam na forma de galactanas (KNUTSEN et al, 1994) e são bastante estudados quanto a sua atividade anticoagulante e antitrombótica (CUNHA, FEITOSA; 2009), além de já ter sido constatada atividade antimicrobiana (KUMARAN et al, 2010) e anti-inflamatória nestes (SOUZA, 2010).

A macroalga vermelha marinha, *Pterocladia beachiae*, pertencente ao reino Plantae, família Pterocladaceae e filo Rhodophyta, é encontrada amplamente distribuída em regiões tropicais e subtropicais, sendo membro do litoral nordestino brasileiro, dessa forma, no decorrer de estudos algumas propriedades terapêuticas foram atribuídas ao gênero *Pterocladia* como potencial antitumoral, anti-inflamatório, antinociceptiva e antioxidante (VIDOTTI; ROLLEMBERG, 2004; MACHADO et al., 2010; RODRIGUES et al., 2010; SILVA et al., 2010; SOUZA et al, 2012; IHA, 2014).

A avaliação da toxicidade de moléculas bioativas é fundamental na pesquisa de agentes terapêuticos. Um método bastante utilizado é através da toxicidade *in vitro* em microcrustáceos de *Artemia salina*, visto o seu custo-benefício, este teste é capaz de avaliar de

forma preliminar substâncias potencialmente tóxicas (ROSA et al., 2016). Por outro lado, também se faz importante outros estudos como a avaliação do potencial antioxidante.

O método do 2,2-difenil-1-picrihidrazil (DPPH) é de fácil execução e apresenta alta sensibilidade, portanto, se faz um dos mais utilizados na avaliação do potencial antioxidante, apesar das divergências quanto a metodologia padrão a ser realizada (KEDARE; SINGH, 2011; OLIVEIRA, 2015).

O estudo antioxidante e toxicológico de espécies marinhas de algas da flora ficológica brasileira é escassa e se faz necessário um maior aprofundamento em pesquisas nessa área, visto as inúmeras doenças cardiovasculares e neurodegenerativas causadas pelo estresse oxidativo, além de proporcionar um maior conhecimento sobre determinada substância no que se diz respeito a sua segurança e eficácia. Dessa forma ambos os estudos contribuem um conhecimento mais amplo acerca das propriedades de substâncias naturais disponíveis em um determinado ecossistema, sendo fundamental na pesquisa de substâncias naturais que apresentem menos efeitos adversos, acarretando assim em melhorias na área da saúde.

Portanto, o presente estudo buscou avaliar a toxicidade *in vitro* e a atividade antioxidante de um polissacarídeo extraído da alga vermelha *Pterocladia beachiae*.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 TIPO DE ESTUDO

A pesquisa realizada foi do tipo experimental com abordagem quantitativa, sendo assim, de forma prática estabeleceu-se uma relação de causa e efeito nas variáveis em estudo, a partir disto, os dados coletados foram expressos numericamente de forma objetiva (MARTINZ; LINTZ, 2013). O testes foram realizados no laboratório de Biofísica da Unileão – Campus Saúde, Juazeiro do Norte –CE, e no laboratório de pesquisa de produtos naturais (LPPN) da URCA, Campus Pimenta, Juazeiro do Norte –CE.

2.2 OBTENÇÃO DO POLISSACARÍDEO SULFATADO

O Polissacarídeo foi cedido pelo Departamento de Química da Universidade Federal do Ceará.

2.3 ANÁLISE DA TOXICIDADE *in vitro* FRENTE *Artemia salina*

Para a obtenção dos náuplios de *Artemia salina* foi preparada água marinha artificial pela adição de 36g de sal marinho e complementando-se para 1000 mL de água destilada e houve incubação dos ovos por 48 horas, sob aeração contínua e exposta à iluminação. A temperatura foi controlada entre 27 e 30° C e o pH mantido entre 7,5 – 9. Após a eclosão dos náuplios, foram então preparadas soluções do polissacarídeo nas concentrações de 0,1, 10, 50, 100 e 1000 µg/mL, como controle positivo foi utilizado Dicromato de Potássio nas mesmas concentrações do polissacarídeo, já a água marinha foi utilizada como controle negativo. Todos os testes foram feitos em triplicata e em cada tubo foi colocada 10 *Artemias salinas*, após 24 horas foi realizada a contagem de náuplios mortos, expresso em porcentagem, para determinar a concentração letal mediana (CL₅₀), sendo considerado tóxico CL₅₀<1000 µg/mL (MEYER et al, 1982 ; HIROTA et al, 2012).

2.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DO DPPH.

Foi verificada a atividade antioxidante pelo método do sequestro do radical livre estável 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH). O método baseia-se no descoramento da solução composta por radicais DPPH• de cor violeta, pela transferência de elétrons ou átomos de hidrogênio de compostos antioxidantes, originando a forma reduzida DPPH-H (GÜNTZEL, 2008). Foi utilizada a técnica de microplaca com 96 poços. Partes das soluções de polissacarídeo foram diluídos em metanol para as concentrações de 2, 5, 10 e 15µg/mL. Solução metanólica de DPPH• 60 µmol.L⁻¹ (700 µL) foi adicionada a 350 µL das soluções preparadas em diferentes concentrações, Como controle positivo foi utilizado Ácido Ascórbico nas mesmas concentrações do polissacarídeo e como controle negativo utilizou-se solução de DPPH (700 µL) + metanol (350µL), as misturas reagiram em temperatura ambiente e na ausência de luz, a leitura foi feita em leitor de ELISA à 515 nm após 30 minutos e posteriormente a atividade antioxidante foi calculada a partir da formula: (AA %) = $100 - [(Abs_{amostra} - Abs_{branco}) / Abs_{controle}] \times 100$ (RUFINO et al, 2007).

2.4 ANÁLISE DE DADOS

Os dados foram apresentados de forma descritiva em forma de tabelas e gráficos. Para comparação dos resultados foi aplicado a análise de variância ANOVA através do *software*

Prisma 8.0, por regressão linear e não-linear, pós-teste de Bonferroni, onde foi considerado significantes os resultados com $p < 0,05$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 TESTE DE TOXICIDADE FRENTE *Artemia salina*.

No presente estudo foram utilizados concentrações do polissacarídeo de 0,1, 10, 50, 100 e 1000 $\mu\text{g/mL}$ nas quais se objetivou determinar a CL_{50} , ou seja a concentração letal mediana capaz de matar 50% da população de *Artemia salinas* utilizadas no teste. Para a validação do teste foi utilizado como controle positivo o Dicromato de Potássio nas mesmas concentrações do polissacarídeo e como controle negativo utilizou-se água Marinha (36g/L).

O controle positivo utilizado Dicromato de potássio em todas as concentrações obteve morte de 100% das *Artemias salinas* em todos os tubos do teste em triplicata, validando assim o teste; já o controle negativo utilizado, água marinha, foi validado com a sobrevivência de 100% da população de *Artemias salinas*. O gráfico 1 demonstra a porcentagem de larvas de *Artemia salina* mortas em relação com as concentrações logaritmais ($\mu\text{g/mL}$) do polissacarídeo através de regressão não-linear, dessa forma obtendo-se a CL_{50} .

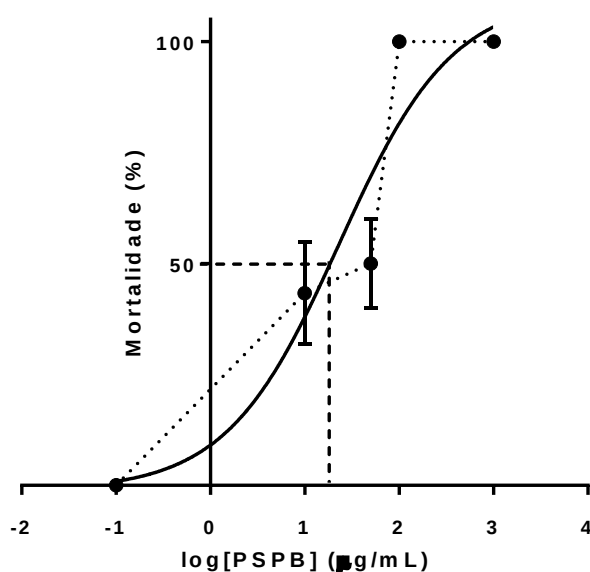


Gráfico 1. Concentração letal mediana (CL_{50}) do Polissacarídeo Sulfatado da *Pterocladia beachiae* em *Artemia salina*. Os testes foram feitos em triplicata em tubos contendo 10 náuplios cada, nas concentrações de

0,1; 10; 50; 100 e 1000 µg/mL . Os dados foram analisados por regressão não-linear a partir dos logaritmos das concentrações.

Fonte: Primária

Foi constatado que a CL₅₀ do polissacarídeo sulfatado extraído da *Pterocladia* *beachiea* foi de 23.15 µg/mL. Segundo esse resultado, o PS é considerado tóxico (Meyer et al., 1982) extratos vegetais são classificados como tóxico quando apresentarem CL₅₀<1000µg/mL; Lhullier, Horta, Falkenberg. (2006) testou o mesmo gênero e encontrou valores de inferiores à 50µg/mL, o que é considerado toxicidade alta, no entanto o ensaio foi com extrato etanólico da *Pterocladia capilacea* diferentemente desse estudo que foi com um polissacarídeo isolado da *Pterocladia beachiea*. Uma vez que não foram encontrados na literatura resultados de CL₅₀ de polissacarídeos sulfatados no gênero *Pterocladia*, seja no extrato ou no polissacarídeo, ambos os estudos relacionam baixas CL₅₀. Já em outras espécies de algas, Ara et al. (1999) encontrou CL₅₀ inferiores a 70 µg/mL nas espécies *Stokeyia indica* (alga marrom) e *Caulerpa racemosa* (alga verde).

Há predominância de concentração letal mediana abaixo de 1000 µg/mL em macroalgas (algas verdes, pardas e vermelhas) em testes com *Artemia salina*. Em seu estudo Aeysha et al. (2010) observou que dentre a parcela de algas marinhas pertencente aos três filos, 88% apresentaram CL₅₀<1000 µg/mL, Já no estudo realizado por Lhullier, Horta; Falkenberg. (2006), houve um predomínio de baixas CL₅₀ (CL₅₀<50µg/mL) entre extratos de algas vermelhas (filo Rhodophyta), superando os valores encontrados em algas Pardas (Filo Phaeophyta) e algas verdes (filo Chlorophyta) sugerindo uma predominância tóxica no filo Rhodophyta, isso indica que a pesquisa por substâncias extraídas de algas marinhas com potencial ativo, com destaque para algas vermelhas, se faz promissora.

Resultados maiores de CL₅₀ em polissacarídeos sulfatados já foram encontrados em algas vermelhas, 165,88 µg/mL na espécie *Eucheuma cottonii* e 337,21 µg/mL na espécie *Eucheuma spinosum* (MUAWANAH; AHMAD; NATSIR, 2016) Já uma CL₅₀ de 93 µg/mL foi encontrada por Manilal et al. (2009) em extratos metanólicos na espécie *Laurencia bradenii*, gênero de alga vermelhas mais estudado mundialmente, todos estes resultados presumem que o filo de algas vermelhas podem apresentar CL₅₀ abaixo de 400 µg/mL, sendo que Costa et al. (2009) enfatiza que extratos com CL₅₀ menor que 200µg/mL são bastante efetivos e presumidamente possuem potencial antifúngico e antibacteriano.

Por outro lado, em um estudo realizado por Selvin; Lipton (2004) demonstrou resultados de CL₅₀ de extratos de algas elevados, *Ulva fasciata* (CL₅₀ = 1.800µg/mL)

Hypnea musciformis (CL₅₀ = 4.200 µg/mL), e o autor considerou os extratos com toxicidade moderada. Costa et al. (2009) ressalta que CL₅₀ superior a 5000 µg/mL apresentam baixa toxicidade, todos esses dados são contra o proposto por Meyer et al. (1982) em que se considera não tóxicos extratos com CL₅₀ maior que 1000 µg/mL, já em um ensaio realizado no extrato da alga marrom *Sargassum crassifolium*, não foi considerado resultados tóxicos na concentração máxima utilizada, a concentração de 300 µg/mL, o que sugere a possível não efetividade completa de substâncias extraídas de algas com baixa CL₅₀ (VILLARUEL, CORONADO; 2013).

Apesar das discussões entre autores a respeito do que é considerado tóxico ou não, além de atividades tóxicas, outra propriedades já foram testadas em polissacarídeos Sulfatados. Witvrouw et al. (1994) testou propriedades antivirais do PS de galactana da espécie de alga vermelha *Aghardhiella tenera*, e verificou a efetividade em inibir o efeito citopático do vírus do HIV-1 e HIV-2. Os polissacarídeos sulfatados de fucanas (algas marrons) são conhecidos antitumorais e possuem atividade antiproliferativa, segundo Religa et al. (2000) Em testes *in vivo*, estas foram capaz de inibir a proliferação de células do musculo liso em modelos pré-clínicos, Já Araujo et al. (2011) testou em modelos de nocicepção e constatou o efeito analgésico do polissacarídeo sulfatado da alga vermelha *Soleira filiformis*, diminuindo o número de contorções em ratos *Wistar*, o estudo também verificou que não houve sinais de toxicidade evidentes nos ratos. Já propriedade anti-inflamatória foi constatada por Souza. (2010) nestes polissacarídeos.

Em meio a discussões em relação a toxicidade em algas, importante relatar que os dados do presente estudo são considerados inéditos, pois não há resultados anteriores com essa espécie. Estudos avaliando a toxicidade de polissacarídeos sulfatados de algas marinhas são considerados escassos na literatura.

3.2 POTENCIAL ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DO DPPH

Após a realização dos testes, os resultados de absorbâncias obtidos foram aplicados a fórmula do cálculo antioxidante, e os resultados analisados através do software Prisma 8.0, gerando assim o gráfico 2.

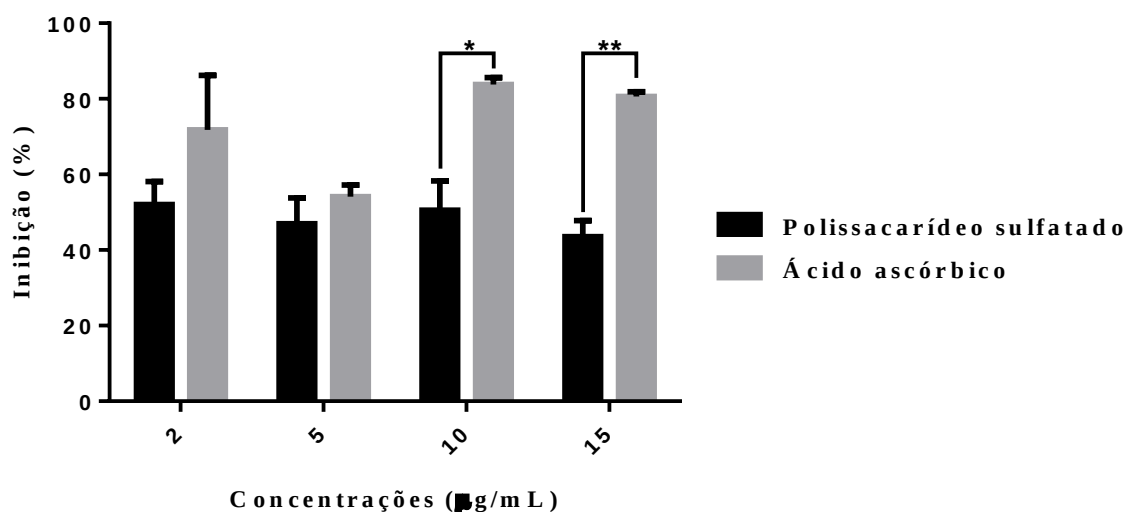


Gráfico 2. Comparação entre as atividades antioxidantes (%) do PS e do Ácido Ascórbico nas concentrações de 2, 5, 10 e 15 µg/mL. Os resultados foram analisados por ANOVA bidirecional seguida pelo pós-teste de Bonferroni, usando o software GraphPad Prism 8.0. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

Fonte Primária.

Pode constatar-se que PS foi capaz de inibir o DPPH em todas as concentrações testadas, sendo que através do ANOVA pode-se observar que concentrações de 10 µg/mL e 15 µg/mL do PS apresentaram resultados significantes de inibição em relação as mesmas concentração do ácido ascórbico, na concentração 10 µg/mL ($p < 0,05$) o PS apresentou 50,6% de atividade antioxidante enquanto o ácido ascórbico apresentou 83,83%, já a concentração 15 µg/mL apresentou-se maior significância ($p < 0,01$) PS com 43,56% de atividade antioxidante, já o ácido ascórbico 80,6%. Os resultados foram analisados também através de regressão linear e que pode ser observado no gráfico 3.

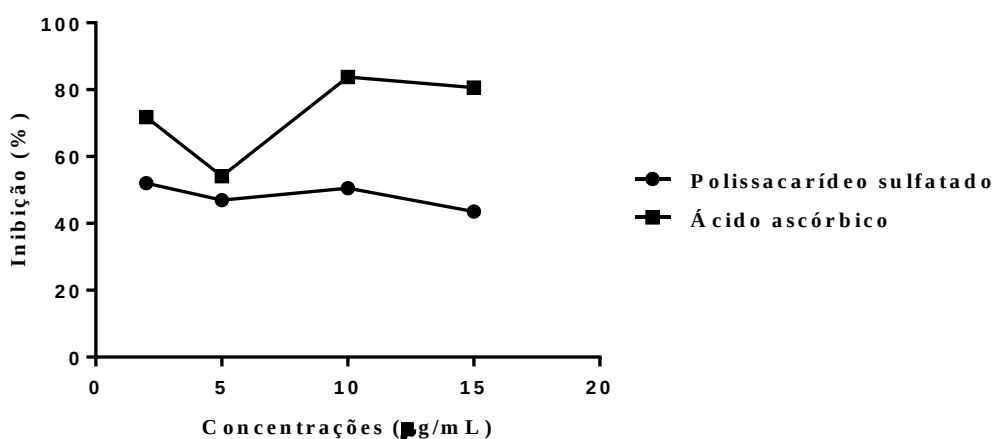


Gráfico 3. Regressão linear – correlação entre a atividade antioxidante (%) ao longo das concentrações do polissacarídeo e a partir desta se obteve a IC_{50} . Fonte: Primária.

Pode observa-se que a atividade antioxidante do PS não foi dose-dependente, e se manteve estável variando entre 40 à 50%, podendo-se afirmar que esta não foi tão efetiva quanto atividade antioxidante do ácido ascórbico, uma vez que nas maiores concentrações deste último houve redução maior que 80% do DPPH. A IC_{50} é a concentração mediana responsável por consumir 50% do DPPH disponível, desta forma determinando o potencial antioxidante (PIRES et al, 2017). Através do gráfico de regressão linear foi possível obter valores de IC_{50} , que estão expostos na Tabela 2.

Tabela 1 – Valores IC_{50} do PS e do Ácido Ascórbico.

Composto	IC_{50} (µg/mL)
Polissacarídeo sulfatado	7,79
Ácido ascórbico	4,30

Fonte: Primária

Como se pode observar, a IC_{50} do PS foi de 7,79 µg/mL, o que é considerado uma IC_{50} baixa se comparado com os resultados do ácido ascórbico 4,30 µg/mL, que também foi baixa Fleita; El-Sayed; Rifaat. (2015) encontrou IC_{50} de 530 µg/mL no PS da espécie do mesmo gênero, a *Pterocladia capillacea*, sendo que sua maior atividade antioxidante foi na concentração de 1000 µg/mL em que este foi capaz de reduzir de 91,5% do DPPH, já o extrato etanólico desta não apresentou IC_{50} , sua maior atividade antioxidante foi de 41,9% na concentração de 1000 µg/mL (ALENCAR et al, 2016).

Souza et al. (2012) testou o PS da alga vermelha *Gracilaria birdiae*, e encontrou resultado de IC_{50} de 1.620 µg/mL, somente na concentração testada de 2000 µg/mL PS foi capaz de reduzir 65% da Solução de DPPH, já Alencar. (2016) testou a mesma concentração (2000 µg/ml) do PS de outra alga vermelha, *Gracilaria caudata*, porém não foi eficaz em reduzir 50% do DPPH (AAO=41%), somente a concentração de 4000 µg/mL reduziu 57, 94% do DPPH, pode-se então verificar a predominância de altas IC_{50} em algas vermelhas, ao contrário do que foi encontrado no PS da alga em estudo.

Além de compostos isolados, extratos de algas também são bastante estudados, como por exemplo, extratos metanólicos, etanólicos ou até mesmo aquosos, em extratos etanólicos da alga vermelha, *Gracilaria birdiae*, Souza et al. (2011) encontrou resultados relativamente menores de CI_{50} (750 µg/mL) se comparado a CI_{50} do polissacarídeo isolado (1620 µg/mL) indagando assim a presença de outros compostos com este potencial no extrato, o autor

ressalta a importância de estudos antioxidantes como este para indústria alimentícia, na busca por antioxidantes de origem natural.

Apesar de resultados de IC_{50} relativamente altos, em um estudo realizado por Alencar et al. (2014) foi encontrado resultados positivos na concentração de $1\mu\text{g/mL}$, de extratos etanólicos das algas vermelhas *Amansia multifida* e *Meristiella echinocarpa*, que reduziu 50% da solução de DPPH, o que não descarta a busca por IC_{50} mais baixas no filo Rodophyta.

Polissacarídeos sulfatados são também encontrados em algas marrons, só que na forma de fucanas, Nariyoshii et al. (Sem ano) realizou testes antioxidantes com as algas marrons, *Dictyota cerviconi*, *Sargassum vulgare* e *C. Padina boergesenii* seguindo a metodologia do DPPH e constatou valores de IC_{50} de $553,8\mu\text{g/mL}$ na espécie *Sargassum vulgare*, já Kim et al. (2007) testou a mesma metodologia em um PS da espécie, *Sargassum fulvellum*, e obteve atividade antioxidante de 90% só que na concentração de $10.000\mu\text{g/mL}$, Rupérez; Ahrazem; Leal. (2002) constatou que através do DPPH e da atividade quelante do ferro que a atividade antioxidante da espécie *Fucus vesiculosus* é alta, ultrapassando resultados da alga vermelha *Nori*, pode se indagar que na literatura o número de estudos antioxidantes em algas marrons é relativamente maior se comparado aos de algas vermelhas.

O estudo antioxidante de polissacarídeos sulfatados em algas ainda permanece escasso. As mais variadas formas de expressar resultados no método do DPPH dificulta a comparação de dados, apesar disso pode-se constatar que a maioria dos resultados encontrados em artigos expressam os resultados na forma de atividade antioxidante (%) e IC_{50} , facilitando de certa forma a equiparar os resultados (OLIVEIRA, 2015)

CONCLUSÃO

O polissacarídeo sulfatado da *Pterocladella beachia* apresentou potencial tóxico, sendo condizente com a literatura que relata a predominância de alta toxicidade e baixas CL_{50} em substâncias extraídas de algas do filo Rodophyta. Pode constatar-se que o polissacarídeo apresentou potencial antioxidante com baixo valor de IC_{50} , diferentemente do que foi encontrado na literatura, em que há predomínio de IC_{50} altas de PS em algas marinhas. Nesse sentido, se fornece suporte para os demais estudos ainda em realização na espécie, auxiliando a traçar-se perfil farmacológico do polissacarídeo sulfatado em estudo.

REFERÊNCIAS

- ALENCAR, D. B. et al. Antioxidant potential and cytotoxic activity of two red seaweed species, *Amansia multifida* and *Meristiella echinocarpa*, from the coast of Northeastern Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 86, n. 1, 2014.
- ALENCAR, D.B. et al. Bioactive extracts of red seaweeds *Pterocladia capillacea* and *Osmundaria obtusiloba* (Floridophyceae: Rhodophyta) with antioxidant and bacterial agglutination potential. **Asian Pacific journal of tropical medicine**, v. 9, n. 4, 2016.
- ALENCAR, P. C. Polissacarídeos obtidos da alga marinha vermelha *Gracilaria caudata* j. agardh: estudo químico-estrutural e avaliação de atividade antioxidante. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) Centro de Ciências da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2016.
- ARA, J. et al. Cytotoxic activity of marine macro-algae on *Artemia salina* (Brine shrimp). **Phytotherapy research: an international journal devoted to pharmacological and toxicological evaluation of natural product derivatives**, v. 13, n. 4, 1999.
- ARAÚJO, I. W. F. et al. Effects of a sulfated polysaccharide isolated from the red seaweed *Solieria filiformis* on models of nociception and inflammation. **Carbohydrate polymers**, v. 86, n. 3, 2011.
- AYESHA et al. In vitro cytotoxicity of seaweeds from Karachi coast on brine shrimp. **Pak J Bot**, v. 42, n. 5, , 2010.
- BARBOSA, M. A. et al. Avaliação da atividade antioxidante pela captura de radicais livres 1,1-difenil-2-picrilhidrazila pelo extrato etanólico e frações de folhas de *smilax* sp. In: **Anais da V Jornada Acadêmica Internacional de Bioquímica**, p. 57-58, 2015.
- BERTI, A. P.; PACHECO, L. S.; ROCHA, C.L.M.S.C. Efeito da *Aloe arborescens* Miller e da *Aloe barbadensis* Miller sobre o desenvolvimento vegetativo em *Aspergillus nidulans*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 4, 2015.
- CÁSSARO, C.M.F.; DIETRICH, C. P. Distribution of sulfated mucopolysaccharides in invertebrates. **Journal of Biological Chemistry**, v. 252, n. 7, 1977.
- COSTA, E.S.S. et al. Estudos farmacognósticos, fitoquímicos, atividade antiplasmódica e toxicidade em *Artemia salina* de extrato etanólico de folhas de *Montrichardia linifera* (Arruda) Schott, Araceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.19, n.4 , 2009.
- CUNHA, P. L. R.; PAULA, R. C. M.; FEITOSA, J. P.A. Polissacarídeos da biodiversidade brasileira: uma oportunidade de transformar conhecimento em valor econômico. **Química Nova**, v. 32, n. 3, 2009.
- DAM, J.V. Medicamentos proveniente do mineral, vegetal e animal. 2016. **Arte Médica Ampliada**, v. 32. n.3, 2012.

DUARTE-ALMEIDA, J. M. et al. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema b-caroteno/ácido linoléico e método de seqüestro de radicais DPPH. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 2, p. 446-452, 2006.

FIRMO, W.C.A. et al. Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais. **Cadernos de Pesquisa**, v.18, 2012.

FLEITA, D.; EL-SAYED, M.; RIFAAT, D. Evaluation of the antioxidant activity of enzymatically-hydrolyzed sulfated polysaccharides extracted from red algae; *Pterocladia capillacea*. **LWT-Food Science and Technology**, v. 63, n. 2, 2015.

GÜNTZEL, A. R. C. **Avaliação das atividades farmacológicas de extrato de Casearia sylvestris Sw.** 2008.Dissertação (Mestrado) – Curso de Ambiente e Desenvolvimento, Centro Universitário UNIVATES, Lajeado, Rio Grande do Sul

HIROTA, B. C. K. et al. Avaliação de toxicidade in vitro: aplicabilidade do ensaio de letalidade frente á artemia salina. **Visão Acadêmica**, v. 13, n. 2, 2012.

IHA, C. **Diversidade de gelidiales baseada em marcadores moleculares e estudo morfoanatômicos para região sudeste do brasil.** 2014. 135f, dissertação (Mestrado em Ciências, na área de Botânica) - Instituto De Biocências da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

KEDARE, S. B.; SINGH, R. P. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. **Journal of food science and technology**, v. 48, n. 4, 2011.

KIM, S.H. et al. Antioxidant activity of sulfated polysaccharides isolated from *Sargassum fulvellum*. **Preventive Nutrition and Food Science**, v. 12, n. 2, 2007.

KNUTSEN, S. H. et al. A modified system of nomenclature for red algal galactans. **Botanica marina**, v. 37, n. 2, p., 1994.

KUMARAN, S. et al. Antibiotic resistant Esherichia coli strains from seafood and its susceptibility to seaweed extracts. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 3, n. 12, 2010.

LHULLIER, C.; HORTA, P. A.; FALKENBERG, M. Avaliação de extratos de macroalgas bênticas do litoral catarinense utilizando o teste de letalidade para *Artemia salina*. **Rev Bras Farmacogn**, v. 16, 2006.

MACHADO, F.L.S. et al. Atividade biológica de metabólitos secundários de algas marinhas do gênero *Laurencia*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 3, 2010.

MANILAL, A. et al. Cytotoxic potentials of red alga, *Laurencia brandenii* collected from the Indian coast. **Global J Pharmacol**, v. 3, n. 2, 2009.

MARTINZ, G. A.; LINTZ, A. **Guia Para Elaboração de Monografias e Trabalhos de Conclusão de Curso** . Editora Atlas SA, 2013.

MCCANDLESS, E. L.; CRAIGIE, J. S. Sulfated polysaccharides in red and brown algae. **Annual review of plant physiology**, v. 30, n. 1, 1979.

MEYER, B. N. et al. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta medica**, v. 45, n. 05, 1982.

MUAWANAH; AHMAD, A.; NATSIR, H. antioxidant activity and toxicity polysaccharide extract from red algae *Eucheuma cottonii* and *Eucheuma spinosum*. **Marina Chimica Acta**, v. 17, n. 2, 2016.

NARIYOSHI, Y. N. et al. Avaliação da atividade antioxidante de frações polissacarídicas sulfatadas de algas marinhas.

OLIVEIRA, G. L. S. Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais in vitro pelo método do DPPH: estudo de revisão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 1, 2015.

PIRES, J. et al. Ensaio em microplaca do potencial antioxidante através do método de sequestro do radical livre DPPH para extratos de algas. **Instituto de Biociências**, 2017.

RELIGA, P. et al. Fucoidan inhibits smooth muscle cell proliferation and reduces mitogen-activated protein kinase activity. **European Journal of Vascular and Endovascular Surgery**, v. 20, n. 5, 2000.

RODRIGUES, J.A.G. et al. Polissacarídeos sulfatados isolados das clorofíceas *Caulerpa racemosa* e *Caulerpa cupressoides*-extração, fracionamento e atividade anticoagulante. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 32, n. 2, 2010.

ROSA, C. S. et al. Composição química e toxicidade frente *Aedes aegypti* L. e *Artemia salina* Leach do óleo essencial das folhas de *Myrcia sylvatica* (G. Mey.) DC. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 18, n. 1, 2016.

RUFINO, M. et al. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total pela Captura do Radical Livre DPPH. **Embrapa Agroindústria Tropical-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2007.

RUPÉREZ, P.; AHRAZEM, O.; LEAL, J. A.. Potential antioxidant capacity of sulfated polysaccharides from the edible marine brown seaweed *Fucus vesiculosus*. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 50, n. 4, 2002.

SELVIN, J.; LIPTON, A. P. Biopotentials of *Ulva fasciata* and *Hypnea musciformis* collected from the peninsular coast of India. **Journal of Marine Science and Technology**, v. 12, n. 1, p. 1-6, 2004.

SILVA, L. M. M. et al. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of lectin from marine red alga *Pterocladia capillacea*. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 33, n. 5, 2010.

SOUSA, A. A. S. **Galactana sulfatada da alga marinha vermelha *gelidium crinale* (turner) lamouroux: respostas na inflamação e nocicepção**. 2010. Dissertação (Mestrado

em Ciências Fisiológicas) - Centro de Ciências da Saúde da Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2010.

SOUZA, B.W.S. et al. Chemical characterization and antioxidant activity of sulfated polysaccharide from the red seaweed *Gracilaria birdiae*. **Food Hydrocolloids**, v. 27, n. 2, 2012.

SOUZA, Bartolomeu WS et al. Antioxidant potential of two red seaweeds from the Brazilian coasts. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 59, n. 10, 2011.

VIDOTTI, E. C.; ROLLEMBERG, M.C.E. Algas: da economia nos ambientes aquáticos à bioremediação e à química analítica. **Química nova**, v. 27, n. 1, 2004.

VIEGAS JR, C.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, v. 29, n. 2, 2006.

VILLARUEL, M.J. S.; CORONADO, A.S. Toxicity of sulfated polysaccharide extracted from brown algae *Sargassum crassifolium* j.g. agardh using *moina macrocopa* (strauss, 1820) **Pup Journal Of Science And Techonology**, v.6, n.1, 2013.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION - **The world medicines situation 2011. Traditional medicines: global situation, issues and challenges**. Geneva. 2011.

WITVROUW, M.et al. Activity of a sulfated polysaccharide extracted from the red seaweed *Aghardhiella tenera* against human immunodeficiency virus and other enveloped viruses. **Antiviral Chemistry and Chemotherapy**, v. 5, n. 5, 1994.