



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**  
**DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**ANA BEATRIZ LIMA MARTINIANO DE OLIVEIRA**

**PERFIL FITOQUÍMICO E AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES BIOATIVAS *in vitro* E *in vivo* DA MACROALGA *Chamaedoris peniculum***

**RECIFE**

**2022**

**ANA BEATRIZ LIMA MARTINIANO DE OLIVEIRA**

**PERFIL FITOQUÍMICO E AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES BIOATIVAS *in vitro* E *in vivo* DA MACROALGA *Chamaedoris peniculum***

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Campus Recife, como requisito para obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

**Orientadora:** Profa. Msc. Silvana Cabral Maggi

**Coorientador:** Francisco Henrique Santana da Silva

RECIFE

2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através  
do programa de geração automática do SIB/UFPE

Oliveira, Ana Beatriz Lima Martiniano de.

Perfil fitoquímico e avaliação das propriedades bioativas in vitro bioativas in vitro e in vivo da macroalga *Chamaedoris peniculum* / Ana Beatriz Lima Martiniano de Oliveira. - Recife, 2022.

34 : il., tab.

Orientador(a): Silvana Cabral Maggi

Coorientador(a): Francisco Henrique Santana da Silva

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde, Farmácia - Bacharelado, 2022.

1. Propriedades fitoativas. 2. atividade anti-inflamatória. 3. macroalga. I. Maggi, Silvana Cabral. (Orientação). II. Silva, Francisco Henrique Santana da. (Coorientação). III. Título.

570 CDD (22.ed.)



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**  
**DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**  
**CURSO DE BACHARELADO EM FARMÁCIA**



Aprovada em: 02/09/2022.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Profa. Ma. Silvana Cabral Maggi  
(Presidente e Orientadora)  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Dra. Sivoneide Maria da Silva  
(Examinadora)  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Profa. Dra. Danielle Patricia Cerqueira Macedo  
(Examinadora)  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Me. Jeann Fabian Branco Júnior  
(Suplente)  
Universidade Federal de Pernambuco

## DEDICATÓRIA

*Aos meus pais, Alexandre e Teresa Cristina. Aos meus irmãos, Maria Letícia, Marina e Otávio. Às minhas avós Anita e Osele. Aos meus tios André e Renata.*

*Por toda fé, apoio e carinho que foram em mim depositados durante os anos de minha vida. Vocês são o alicerce da minha construção.*

## AGRADECIMENTOS

*No dia 16 de fevereiro de 2017 às 16h, tive o que levarei como um dos momentos mais marcantes e emblemáticos de toda minha vida: Tinha finalmente ingressado na tão sonhada Universidade Federal de Pernambuco.*

*Nessa trajetória de cinco anos, de todos os grandes aprendizados que me foram passados nesse longo, árduo e satisfatório percurso, começo esses agradecimentos concluindo o seguinte ensinamento: Ninguém se forma sozinho.*

*Foram necessárias muitas mãos para me fazer chegar até aqui.*

*Primeiramente, a mão poderosa de Deus, que em toda sua infinita bondade me concedeu graça e sabedoria. Sobre tudo, a dádiva da busca pelo conhecimento.*

*Em seguida, a minha grande família, distribuída em diversas casas, mas centralizadas no mesmo apoio e afeto.*

*Aos meus pais, Alexandre e Teresa Cristina, que foram fundamentais nos meus princípios, sempre me incentivaram e independente de todos os cenários me mostraram que o amor de pai e mãe prevalece sobre todas as coisas. Espero conseguir retribuir em breve tudo que conseguiram investir em mim!*

*À minha irmã, Maria Letícia, que desde o seu nascimento foi um dos meus sonhos, a nossa fidelidade e irmandade vai muito além do que posso por em palavras nesse texto. Você é e sempre será a minha pessoa no mundo.*

*Aos meus irmãos mais novos Marina e Otávio, por todo carinho e admiração que vocês sempre tiveram de mim.*

*Ao meu primo/irmão João Pedro, que em 1 ano de vida me ensina sobre a simplicidade das coisas, mesmo nos poucos momentos que estou em casa.*

*Às minhas avós Anita e Osele, a quem eu devo a vida, que me deram criação e educação, e me deixam presentes em suas orações diárias há 23 anos.*

*Ao meu avô Isaac, pelos momentos antes vividos, e que mesmo de longe sempre deixou ciente do seu amor.*

*Ao meu padrasto e madrasta, Fabinho e Claudinha, pelas suas palavras de apoio.*

*A todos os meus tios e tias, primos e primas, que sempre lançaram palavras de afirmação. Em especial, a tio Deca e tia Renata, que me adotaram pras suas vidas como filha.*

*Ao meu namorado, Aurivan Júnior, o bem da minha vida. Que nesses dias têm me dado um apoio, carinho e suporte emocional que só nós sabemos. Espero em breve realizarmos tudo o que sonhamos pra nossas vidas, juntos.*

*Às minhas amigas Letícia e Jullyane, quem eu compartilho 10 anos de amizade, e que em todos esses anos sempre nos mantivemos presentes.*

*À minha amiga Ana Marcely, que em pouco tempo tornou-se infinitamente especial e ganhou um espaço grande em meu coração. Te desejo essa mesma conquista acadêmica logo em breve.*

*A todos os meus amigos de turma, principalmente às 16 pessoas que estão presentes no grupo do “Acoplamento” e “Pequeno Rebanho”. Eu tenho muito orgulho de como crescemos, da nossa união uns com os outros mesmo em suas diferenças. E serei infinitamente grata por toda a ajuda que cada um me deu em diversos momentos nesse curso. Digo e repito que eu não poderia ter uma turma melhor do que eu tive.*

*A todos os meus amigos da graduação além da turma, os que formei durante os estágios em que estive. Sobretudo, à Francisco. A nossa aproximação e amizade foi o meu maior presente nesta reta final.*

*A todos os integrantes do Laboratório de Síntese e Planejamento de Fármacos (LPSF), que me abriram as portas para que eu fizesse três anos de iniciação científica. Especialmente, a Arion, sem você eu não teria realizado o meu IC, e para além dele, uma amizade que não mede esforços.*

*A todos os docentes do Departamento de Ciências Farmacêuticas pelo conhecimento na grande área da farmácia. Em especial à aqueles que estão junto comigo nesse momento tão importante no qual estou passando de reta final em curto prazo.*

*À coordenação, que não mediu esforços em tempo hábil.*

*A todos que participaram das minhas vivências dentro da Universidade.*

## EPÍGRAFE

*“As pessoas felizes lembram o  
passado com gratidão, alegram-  
se com o presente e encaram o  
futuro sem medo.”*

*-Epicuro*

## RESUMO

Uma prospecção bioativa do extrato hidroalcoólico da macroalga *Chamaedoris peniculum* (*Siphonocladaceae*) foi realizada sob diferentes metodologias investigativas, visando avaliar o potencial anti-inflamatório e antinociceptivo desta espécie marinha. Assim, foram investigados os principais constituintes metabólicos descritos na literatura, bem como sua relação *in vitro* e *in vivo* em relação aos principais alvos de inflamação. A triagem fitoquímica e citotóxica das algas marinhas foi investigada e posteriormente seguida com análises anti-inflamatórias. A fitoquímica mostrou a presença de Ácido Graxo, alcaloides, carboidratos, fenóis, flavonoides e terpenos. A triagem *in vitro* não mostrou toxicidade nas concentrações testadas (25.50.100, 200, 400 e 800 µg/mL). Nos resultados *in vivo* a *C. peniculum* apresentou resultados anti-inflamatórios e analgésicos em camundongos, analgesia equivalente a 93,82% para a concentração de 50 mg/kg, 94,5% para 100 mg/kg e 82,28% para 50 mg/kg e 86% para 100 mg/kg para efeito anti-inflamatório. Assim, esta espécie promete o desenvolvimento de produtos farmacêuticos anti-inflamatórios, exigindo estudos mais aprofundados relacionados à sua bioatividade.

**Palavras-chave:** Anti-inflamatória, Algas Verdes, Bioatividade, Citotoxicidade.

## ABSTRACT

A bioactive prospection of the hydroalcoholic of the macroalgal extract of *Chamaedoris peniculum* (*Siphonocladaceae*) was carried out under different investigative methodologies, evaluating the anti-inflammatory and antinociceptive potential of this marine species. Thus, the main constituents of the main targets mentioned in the literature were investigated, *in vivo* in relation to the main ones. The phytochemical and cytotoxic screening of seaweed was investigated further and then with anti-inflammatory accompaniments. The phytochemistry showed the presence of fatty acid, alkaloids, carbohydrates, phenols, flavonoids and terpenes. *In vitro* screening showed no toxicity at 0.5, 100, 200, 400 and 800 µg/mL. In the *in vivo* results, *C. peniculum* presented anti-inflammatory and analgesia results in mice equivalent to 93.82% for the concentration of 50 mg/kg, 94.5% for 100 mg/kg and 82.28% for 50mg/kg and 86% to 100 mg/kg for anti-inflammatory effect. . Thus, this species promises the development of anti-inflammatory pharmaceuticals, requiring further studies related to its bioactivity.

**Keywords:** Anti-inflammatory, Bioactivity, Cytotoxicity, Green algae.

## LISTAS DE FIGURAS

<b>Figura 1 - <i>Chamaedoris peniculum</i></b> .....	20
<b>Figura 2 – Componentes das respostas inflamatórias, aguda e crônica, e suas principais funções</b> .....	22

## LISTAS DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Viabilidade celular de fibroblastos murinos em comparação com as concentrações testadas da macroalga <i>Chamaedoris peniculum</i> .....	27
<b>Gráfico 2</b> - Resultados do ensaio de edema da pata para as concentrações testadas de extrato de <i>Chamaedoris peniculum</i> .....	27
<b>Gráfico 3</b> - Resultados do ensaio de contorção abdominal para as concentrações testadas do <i>Chamaedoris peniculum</i> .....	27

## **LISTAS DE TABELAS**

<b>Tabela 1</b> - Principais constituintes metabólicos encontrados com testes fitoquímicos.....	25
---	----

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	16
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	18
<b>2.1 OBJETIVO GERAL</b> .....	18
<b>2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b> .....	18
<b>3 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	19
3.1 Algas Marinhas .....	19
3.2 Algas e potencial biotecnológico .....	19
3.3 <i>Chamaedoris peniculum</i> (J.Ellis & Sol.) Kuntze .....	20
3.4 NOCICEPÇÃO.....	21
3.5 INFLAMAÇÃO.....	21
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	23
4.1 Material Vegetal.....	23
4.2 PREPARAÇÃO DO EXTRATO.....	23
4.3 IDENTIFICAÇÃO DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS .....	23
4.4 ENSAIOS <i>in vitro</i> .....	23
4.4.1 Citotoxicidade por ensaio MTT .....	23
4.5 ENSAIOS <i>IN VIVO</i> .....	24
4.5.1 Aspectos éticos.....	24
4.5.2 Ensaio de dor abdominal induzido por ácido acético .....	24
4.5.3 Edema de pata induzido por carragenina .....	24
4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	25
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	26
5.1 Perfil fitoquímico .....	26
5.2 CITOTOXICIDADE POR ENSAIO MTT .....	26
5.3 ATIVIDADE ANALGÉSICA E ANTI-INFLAMATÓRIA .....	27
<b>7 CONCLUSÃO</b> .....	31
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	32



## 1 INTRODUÇÃO

As algas verdes representam um grupo de espécies de plantas marinhas que possuem bioativos de interesse biotecnológico, cosmológico e farmacêutico, mas as informações sobre seus possíveis usos são cada vez mais comuns, aplicabilidade em diversos setores como biofertilizantes, ração animal, produtos de saúde, alimentos e biocombustíveis (ADENIYI; AZIMOV; BURLUKA, 2018).

Devido à sua possível aplicabilidade, as algas verdes são amplamente estudadas e possuem diversos relatórios sobre as atividades biológicas pertencentes a esse grupo, muitas delas tendem a atender às demandas da indústria farmacêutica. (JIMENEZ-LOPEZ *et al.*, 2021), classificado como um dos maiores e mais importantes setores do mundo (MAJEWSKA *et al.* 2021). No entanto, apesar de sua ampla distribuição, algumas algas quase não possuem estudos relacionados às suas possíveis atividades de interesse biotecnológico, o que favorece a existência de uma lacuna relacionada à distribuição cosmopolita de espécies vegetais e ao baixo número de estudos relacionados às suas propriedades.

Neste contexto, a espécie *Chamaedoris peniculum*, anteriormente conhecida como *Penicillus annulatus*, pertence à família *Sifonocladaceae* e à ordem *Cladophorales*, onde sua distribuição ocorre em águas tropicais para subtropicais do Atlântico, Oceano Índico e Oceano Pacífico (LELIAERT *et al.*, 2007). No Brasil, sua distribuição ocorre nos litorais dos estados do Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Bahia, Espírito Santo e Rio de Janeiro (MOURA *et al.*, 2012). Apesar de sua ampla distribuição, esta espécie não apresenta estudos relacionados à sua bioatividade. A ampla distribuição desta espécie em regiões tropicais permite a aquisição de diversas características sazonais que possam ampliar a composição fitoquímica, absorção nutricional, temperatura e fotoperíodo, possibilitando o desenvolvimento de atividades relevantes para os setores saúde, alimentação, farmacêutico, cosmetológico e afins (XU *et al.* 2021).

A escassez de pesquisas recentes relacionadas ao poder biotecnológico desta espécie marinha estimula a busca por atividades de interesse, uma vez que outras algas da classe *Ulvophyceae*, como o gênero *Penicillus*, foram investigadas e a presença de diversas atividades, como a antitumoral encontrada em *P. dumetosus* (MOO-PUC; ROBLEDO; FREILE-PELEGRIN 2011), o perfil antioxidante estudado para *P. pyriformis* encontrado no México, apresentou concentração fenólica e atividade antioxidante relevante (ZUBIA; ROBLEDO; FREILE-PELEGRIN, 2007). Além disso, as espécies *P. dumetosus* e *P. pyriformis* têm antioxidantes dietéticos e efeitos medicinais (CORNISH, GARBARY, 2010).

*P. capitatus* foi estudado por sua ação antiviral, e os resultados mostraram uma atividade antiviral da ordem de 96% contra o vírus herpes simplex lauren (SOARES *et al.*, 2012) e atividade antifúngica aumentando a sensibilidade dos antifúngicos utilizados na clínica (LI *et al.*, 2006). Dado o enorme potencial das atividades terapêuticas apresentadas por esta classe, o objetivo deste estudo é avaliar o potencial biotecnológico e anti-inflamatório da espécie *Chamaedora peniculum* sob diferentes metodologias de pesquisa, *in silico*, *in vitro* e *in vivo*, a fim de reduzir a lacuna existente entre a distribuição pan-tropical da espécie e o baixo número de pesquisas sobre o tema.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

Estudo é determinar o potencial biotecnológico e anti-inflamatório da espécie *Chamaedora peniculum* sob diferentes metodologias de pesquisa, *in silico*, *in vitro* e *in vivo*.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Verificar o potencial citotóxico da macroalga *Chamaedora Peniculum*;
- Avaliar o potencial anti-inflamatório e antinociceptivo da macroalga *Chamaedora Peniculum*;
- Correlacionar dos dados *in vitro* e *in vivo* obtidos com a atividade anti-inflamatória apresentada.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 Algas Marinhas

O perfil diverso apresentado pelas macroalgas no ambiente marinho está intimamente relacionado com condições ambientais, entre elas, a qualidade da água, pH, salinidade e o tipo de nutriente disponível para a sua fixação (SANTOS *et al.*, 2020). A capacidade de sobrevivência aos diferentes habitats ocorre devido à complexidade estrutural apresentada pelas macroalgas, o que permite sua sobrevivência em costões rochosos, manguezais, atóis, bancos arenosos, recifes de coral, estuários, substratos artificiais, entre outros. Esses seres vivos tendem a possuir diferentes estratégias para a sua reprodução, como a alta habilidade de dispersão dos esporos e capacidade de regeneração, além dos aspectos de competição intra e interespecífica. Estas características favorecem a rápida colonização do substrato, seja orgânico ou inorgânico (TEXEIRA, 2013; PEREIRA; JESUS; NUNES, 2019).

As macroalgas marinhas são amplamente encontradas ao longo do litoral brasileiro, sendo mais abundantes nas regiões Nordeste e Sudeste. Essas espécies estão distribuídas em três filos: *Rhodophyta*, *Ochrophyta* e *Chlorophyta*, conforme os pigmentos fotossintéticos produzidos por suas células (BASÍLIO *et al.*, 2020). As características entre esses filos diferem com relação a fisiologia e aos constituintes químicos. Algumas espécies possuem maior conteúdo mineral, outras maior teor proteico, e algumas apresentam alto conteúdo de fibras e vitaminas (VASCONCELOS; GONÇALVES, 2013).

#### 3.2 Algas e potencial biotecnológico

As macroalgas são comumente utilizadas como matéria-prima para uma variedade de produtos fabricados pelas indústrias alimentícias, farmacêuticas e de cosméticos. No Brasil, a diversidade aquática é abundante e as diferentes linhas de pesquisas associadas às macroalgas tem apresentado resultados promissores. Estes estudos, sobretudo, envolvem o isolamento, a caracterização estrutural e química de moléculas bioativas, que possam potenciais aplicações biotecnológicas. As macroalgas de interesse comercial são largamente distribuídas em todo o litoral brasileiro, com as melhores e maiores variedades concentradas no litoral do Nordeste. Alguns cientistas afirmam que, em alguns ecossistemas marinhos, a diversidade biológica é maior se comparada às florestas tropicais (MESADRI, 2021). A evolução e o modo de sobrevivência da vida aquática resultam em organismos que produzem substâncias únicas com funções ecológicas e fisiológicas diversas. As macroalgas marinhas produzem metabólitos secundários, que atuam na proteção contra patógenos e promovem a resistência e adaptação em seus respectivos nichos ecológicos. Os metabólitos secundários são mediadores de

interações ecológicas e ocorrem em grupos específicos de organismos. Muitos desses compostos, quando utilizados em doses adequadas podem ser convertidos em medicamentos, beneficiando a população humana e animais domésticos. Desse modo, produtos do metabolismo secundário relacionados a sobrevivência e dispersão de seres vivos, podem ser manipulados pela biotecnologia e destinados à saúde com diferentes aplicações biológicas, inclusive, como agentes antimicrobianos e antivirais.

### 3.3 *Chamaedoris peniculum* (J.Ellis & Sol.) Kuntze

A *Chamaedoris peniculum* foi catalogada em 1898, e mesmo com mais de um século e pouco explorada na literatura. Suas características taxonômicas são de talo verde-claro, 5-8 cm de altura, crescem de forma solitária ou em grupo de até 10 indivíduos. Estipe cilíndrico e curto, não ramificado, 3,6-5,1-6,5 cm em comprimento  $\times$  1-2-3 mm diâmetro parede celular, estratificada, 25-52  $\mu$ m espessura. Possui capítulo achatado, peltado, 0,5-1,2-3 cm comprimento  $\times$  0,6-1,85-3,5 cm diâmetro, formado por filamentos originados distalmente no estipe e a partir de 1-3 células pequenas, sobrepostas. Está amplamente distribuída no Oceano Atlântico nas praias das América Latina, e possui grande interesse na pesquisa pela sua defasagem literária.

**Figura 2** - *Chamaedoris peniculum*



Fonte: Autor (2022)

### 3.4 NOCICEPÇÃO

O conceito de nocicepção foi introduzido pelo pesquisador Sherrington no início do século XX. Posteriormente, os achados científicos consideraram que a nocicepção é definida pelos seguintes critérios: atentar o indivíduo sobre a existência de um dano tecidual ou a sua probabilidade de ocorrência na percepção desse estímulo (LE BARS *et al.*, 2001; ALVES *et al.* 2017). Sendo assim, a nocicepção é um mecanismo sensorial de grande importância na sobrevivência das espécies.

Portanto, a influência dos estímulos ambientais físicos, químicos ou microbiológicos é ligada diretamente em uma cascata complexa de eventos da periferia até as estruturas superiores do sistema nervoso central (SNC) (ALMEIDA, 2018). A dor enquanto sensação somática, pertencente ao sistema nociceptivo, tem profunda relação com as condições do meio externo e intrínsecas do organismo. Trata-se de um sinal que envolve cascatas complexas provocadas por um real ou potencial dano tecidual manifestado por reações autônomas, psicológicas e comportamentais (Alves *et al.*, 2017; DUBIN & PATAPOUTIAN, 2010).

Dessa forma, a dor resulta de vários eventos que tem início na ativação de terminais de neurônios sensitivos primários periféricos, a transmissão do sinal nociceptivo para o encéfalo, o processamento nociceptivo em áreas distintas do encéfalo e, por último, a conversão da informação nociceptiva em percepção da dor (BASBAUM & JESSEL, 2000; Segner 2012; Wolkers 2014). Os nociceptores podem ser ativados por vários tipos de energias, incluindo mecânica, eletromagnética, elétrica, térmica e estímulo químico (COUTAUX *et al.*, 2005). Além disso, podem ainda ser ativados por diversos neuromediadores inflamatórios (substâncias algôgenicas) liberados por macrófagos, mastócitos, células endoteliais ou nervos traumatizados, facilitando a transmissão dolorosa.

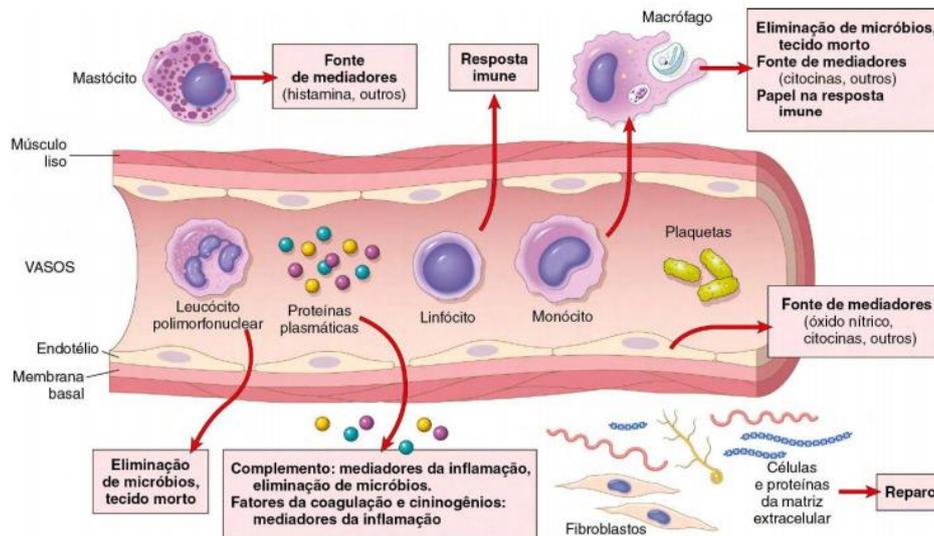
### 3.5 INFLAMAÇÃO

A função correta de um tecido é indispensável para o funcionamento do corpo. Quando os tecidos são feridos, danificados ou infectados por organismos exógenos, respostas sistêmicas são ativadas com os principais objetivos de eliminar os fatores agressores o mais rápido possível, restaurando o tecido e gerando informações, facilitando o reconhecimento e a eliminação em um encontro futuro.

O resultado é uma resposta fisiológica rápida de danos ao organismo e infecções, ou seja, inflamação (BANNENBERG *et al.*, 2007). O processo inflamatório inclui alterações bioquímicas, fisiológicas e imunológicas, que se expressam na fase aguda (Figura 2), que

prossegue o contato com o agente lesivo, e na fase crônica, que a sucede após algum tempo (GERALDO *et al.*, 2008).

**Figura 2** – Componentes das respostas inflamatórias, aguda e crônica, e suas principais funções.



Fonte: Kumar *et al.* (2008)

A reação inflamatória constitui um dos componentes mais importantes da resposta imunitária e, embora faça parte dos mecanismos defensivos contra grande número de agressões, em muitos casos ela própria pode também causar danos ao organismo (BRASILEIRO FILHO, 2017). Dados recentes mostraram que a inflamação está associada a diversas doenças como diabetes, obesidade, doença de Parkinson e Alzheimer, câncer, e outros distúrbios (FRANKS;SLANSKY, 2012; EIKELENBOOM *et al.*, 2012; DURRENBERGER *et al.*, 2012; KARALIS *et al.*, 2009).

Portanto, agentes anti-inflamatórios têm sido utilizados para o tratamento de doenças inflamatórias clássicas, como artrite reumatoide, doenças respiratórias e cardiovasculares. O uso clínico de anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) está associado a uma toxicidade significativa, particularmente no trato gastrointestinal e nos rins, um dos fatores ligados a esses efeitos é a falta de seletividade (UCHOA *et al.*, 2009). Consequentemente, a biotecnologia demonstra grande interesse na formulação e produção de novos compostos bioativos sem esses efeitos colaterais.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Material Vegetal

Amostras da macroalga *Chamaedoris peniculum* foram coletadas no litoral da praia de São José da Coroa Grande, no estado de Pernambuco. As amostras foram obtidas em novembro de 2020 pela equipe composta por pesquisadores da Universidade Federal de Pernambuco e identificadas taxonomicamente por um especialista botânico do grupo.

### 4.2 PREPARAÇÃO DO EXTRATO

O material foi seco em uma estufa de circulação de ar forçado (40-45°C) e processado em seguida de extração hidroalcoólica (70 % etanol e 30% água destilada) em um banho de ultrassom. As amostras foram concentradas através do rotaevaporador até que todo o álcool fosse removido e depois congelado e liofilizado.

### 4.3 IDENTIFICAÇÃO DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS

A espécie marinha foi testada para as principais classes de metabólitos primários e secundários, que eram ácidos graxos, terpenos, carboidratos, taninos, saponinas, quinonas, flavonoides, fenóis e alcaloides, onde a metodologia de identificação desses compostos foi evidenciada utilizando os reagentes Alfa-naftol, álcool 70%, ácido sulfúrico para carboidratos, solvente polar e ácido sulfúrico para terpenos, hexano, anidrido acético e ácido sulfúrico para ácidos graxos, cloreto de hexano e ferro para taninos, água destilada e agitação vigorosa por um minuto para saponinas, ácido clorídrico concentrado para quinonas, hidróxido de sódio e ácido clorídrico para fenóis e flavonoides, reagente de Wagner para alcaloides, registro de Simões et al. (2010) e Cunha (2014).

### 4.4 ENSAIOS *in vitro*

#### 4.4.1 Citotoxicidade por ensaio MTT

O método MTT foi utilizado para medir o efeito citotóxico de *Chamaedoris peniculum* o extrato de algas foi realizado de acordo com Mosmann (1983) com algumas modificações. Inicialmente, a cultura das células dos fibroblastos de camundongos murino L929, foram cultivadas em placas de 96 poços contendo  $2 \times 10^4$  células por poço a 37° C com 5% de CO<sub>2</sub> e 95% de umidade por 24 h. As células foram então incubadas com diferentes concentrações do extrato em diferentes momentos. Em seguida, 20 µL de MTT (3-[4, 5-dimetiltiazol-2-il]-2, 5-difeniltetrazolio brometo) (5 mg/ml) foi adicionado a cada poço. Após 4h de incubação, o sobrenadante foi descartado e 100 µL de DMSO foi adicionado a cada poço para dissolver o

formazan resultante. Após 10 min e agitação das placas, a absorção óptica a 570 nm foi medida pelo leitor ELISA. Poços contendo células sem extratos foram considerados como controles. O percentual de inibição de crescimento para cada concentração é calculado utilizando-se a seguinte fórmula: Inibição (%)  $(1 = A_{570, \text{tratada}} / A_{570, \text{controle}}) \times 100$ . Todos os procedimentos foram realizados de acordo com o projeto aprovado pelo comitê de ética da Universidade Federal de Pernambuco (CAAE: 67266817.2.0000.5208; CEP-UFPE; Plataforma Brasil).

#### 4.5 ENSAIOS *IN VIVO*

##### 4.5.1 Aspectos éticos

Todos os procedimentos experimentais estão de acordo com as Leis Brasileiras de Experimentação Animal e foram submetidos ao Comitê de Ética Animal da Universidade Federal de Pernambuco e receberam parecer favorável de acordo com o protocolo nº. 0003/2018. Ratos machos (*Mus musculus*) Suíços pesando entre 30 e 35 g e com idade entre 8 e 10 semanas, obtidos do laboratório do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA) foram utilizados em condições padrão (por exemplo, 12 h de luz / escuro 0,1 ° C e 50-55% de umidade) com espécies de alimentação adequadas e água fornecida *ad libitum*. Os animais foram aclimatados e jejuados por 6 a 8 h e restrição de água 30 min antes dos experimentos.

##### 4.5.2 Ensaio de dor abdominal induzido por ácido acético

A avaliação da atividade antinociceptiva foi realizada de acordo com o método descrito por Collier *et al.* (1968) com modificações. Os camundongos foram divididos em quatro grupos com seis animais cada. A nocicepção foi induzida por ácido acético intraperitoneal (*i.p.*) em volume de 0,1 mL/10 g.) 0,8 %. Os animais foram tratados com soro fisiológico de 0,9% (veículo), Extrato 50 (50 mg/kg), Extrato 100 (100 mg/kg) ou Indometacina (20 mg/kg) administrado oralmente (V.O.) 1 hora antes do agente nociceptivo. Após injeção de ácido acético, o número de contorções abdominais foi registrado entre 5 – 15 minutos após a administração (QUEIROZ *et al.*, 2010).

##### 4.5.3 Edema de pata induzido por carragenina

Os ratos machos (*Mus musculus*) foram divididos em seis grupos de seis animais cada. O edema da pata foi induzido por carragenina 2%, injetado em um volume de 15 µL/animal na região subplantar da pata direita do camundongo (Winter *et al.* 1962) e 15 µL/soro fisiológico 0,9% na pata esquerda. Os animais foram pré-tratados com diferentes produtos: Extrato de

*Chamaedoris peniculum* (20 mg/kg), veículo (soro fisiológico 0,9%) ou indometacina (20 mg/kg) 1 h antes das injeções de subplantar. O volume da pata foi medido por pinça em 1, 2, 3, 4 e 5h depois, como descrito anteriormente (HUANG *et al.*, 2012). A inibição do edema foi calculada por (pataD-PataE).

#### 4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O projeto experimental foi completamente randomizado, com três replicações, para verificar os efeitos biológicos. A Análise de Variância (ANOVA) foi aplicada quando os efeitos dos tratamentos apresentaram diferença significativa ( $P < 0,05$ ), os meios foram comparados utilizando-se o teste tukey, estabelecendo um nível de significância de 5%. Regressão linear simples (software SPSS 15.0; Bioestat 4.0). Os gráficos e valores de CI 50 e seus respectivos limites de confiança de 95% (CL 95 %) foram elaborados utilizando o software prisma 6.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Perfil fitoquímico

O perfil fitoquímico do extrato obtido foi determinado por reações específicas de determinação metabólica, conforme resumido na Tabela 1. Com os resultados obtidos, foi possível uma análise comparativa entre os dados encontrados na literatura dos principais estudos relacionados às espécies do gênero *Chamaedoris* e a presença de metabólitos especializados para esse grupo de algas, e que poderiam estar relacionados à atividade anti-inflamatória investigada posteriormente.

**Tabela 1.** Principais constituintes metabólicos encontrados com testes fitoquímicos.

Metabólito	Reação	Resultado
Ácidos graxos	Coloração Azul, verde, vermelho e laranja	Positivo
Alcaloides	Formação de precipitado	Positivo
Carboidratos	Coloração amarelo-ouro	Positivo
Fenóis	Coloração azul/esverdeado	Positivo
Flavonoides	Coloração vermelha	Positivo
Quinonas	Coloração rósea ou vermelha	Negativo
Saponinas	Espumas persistentes	Negativo
Taninos	Formação de precipitado	Negativo
Terpenos	Coloração amarela ou vermelha	Positivo

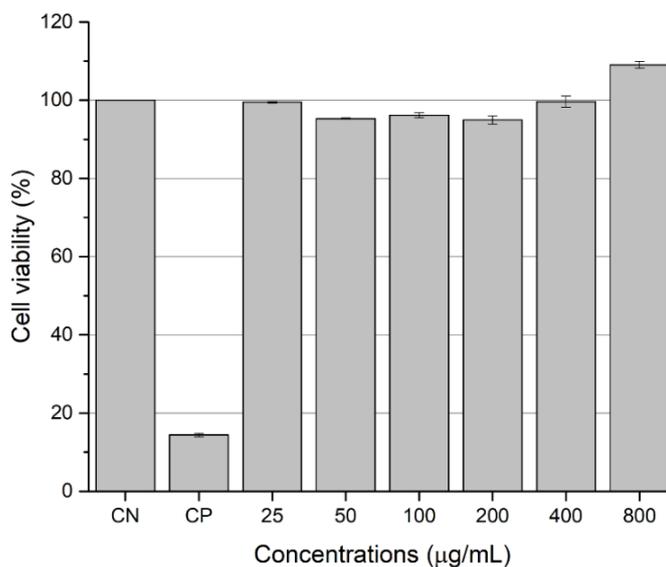
Fonte: Autor (2022)

Métodos colorimétricos, precipitação ou espuma são indicativos para a identificação qualitativa de classes metabólicas distintas que podem existir em um extrato. Assim, o uso dessas metodologias é um indicativo para prospecção fitoquímica, uma vez que sua execução exige o uso de reagentes comuns, com baixo custo e fácil reprodutibilidade (SOARES *et al.*, 2016). Assim, foi possível identificar as classes metabólicas da macroalga.

### 5.2 CITOTOXICIDADE POR ENSAIO MTT

Com o objetivo de encontrar uma dose adequada para testes anti-inflamatórios *in vivo*, foi realizado o ensaio de citotoxicidade pelo método MTT. Os resultados, exibidos no Gráfico 1 obtidos mostraram que nenhuma das concentrações testadas apresentou efeito tóxico para as linhas celulares testadas.

**Gráfico 1** - Viabilidade celular de fibroblastos murinos em comparação com as concentrações testadas da macroalga *Chamaedoris peniculum*



CN= Controle negativo; CP= Controle positivo

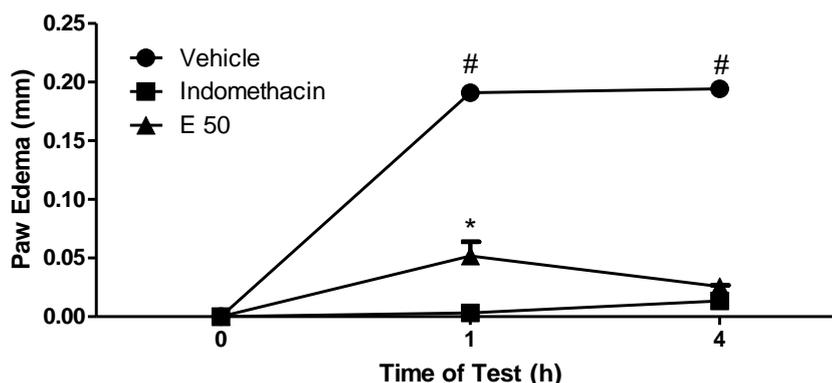
As algas verdes têm diversas atividades de viabilidade celular descritas na Literatura, uma vez que essa atividade biológica é elucidada para a descoberta e desenvolvimento de novos compostos antitumorais. Assim, o estudo de ZBAKH *et al.* (2020) com a espécie *Codium decortatum*, demonstrou que os extratos obtidos mostraram atividade citotóxica em face da HeLa, onde houve inibição do crescimento da linhagem tumoral. Outro estudo, realizado por Haq *et al.* (2019), utilizando *Chaetomorpha* sp. e linhas celulares para câncer de mama MCF-7 e MDA-MB-231, demonstraram que algas marinhas têm potencial anti-tumorigênico. Tendo em vista os estudos acima mencionados, o presente estudo estudou o perfil citotóxico de *Chamaedoris peniculum* em fibroblastos saudáveis para avaliar a viabilidade celular e a dose mínima de segurança para uso em testes subsequentes. Todas as concentrações testadas (25.50.100.200.400 e 800 µg/ml), evidenciaram que não houve efeito citotóxico do *Chamaedoris peniculum*.

### 5.3 ATIVIDADE ANALGÉSICA E ANTI-INFLAMATÓRIA

Os resultados obtidos, figura 6 e 7, mostraram que *Chamaedoris peniculum* é uma alga fortemente ativa em processos de analgesia e anti-inflamação, apresentando analgesia equivalente a 93,82% para a concentração de 50 mg/kg, 94,5% para 100 mg/kg no teste de contorção abdominal e 82, 28% para 50 mg/kg e 86% para 100 mgs / kg de efeito anti-inflamatório no teste de edema da pata. Com os resultados, notou-se que a inibição da inflamação pelo teste de edema da pata foi superior ao controle da indometacina (Gráfico 2)

em todos os momentos do teste, sugerindo que *Chamaedoris peniculum* possivelmente atua na inibição da ciclooxygenase 1, reduzindo a degradação da proteína e inibindo o processo inflamatório.

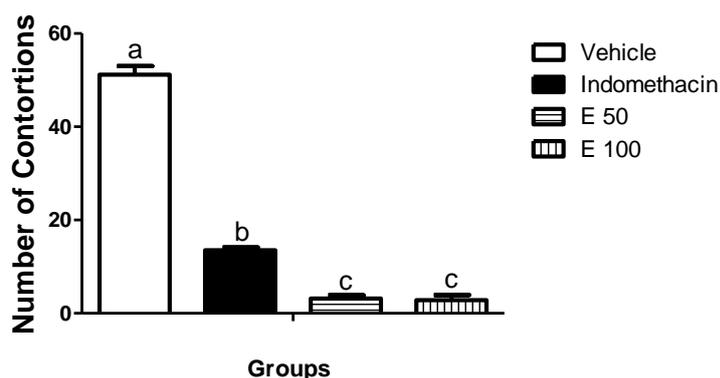
**Gráfico 2** - Resultados do ensaio de edema da pata para as concentrações testadas de extrato de *Chamaedoris peniculum*



Fonte: Autor (2022)

Para o teste de contorção abdominal, o Gráfico 3 mostra que a *Chamaedoris peniculum* também teve um efeito analgésico maior do que a indometacina, uma vez que o número de contorções disso foi menor do que o da droga de controle.

**Gráfico 3** - Resultados do ensaio de contorção abdominal para as concentrações testadas do *Chamaedoris peniculum*



Fonte: Autor (2022)

Neste estudo, avaliamos a ação anti-inflamatória e analgésica do extrato hidroalcoólico de *C. peniculum*, analisando seus efeitos em diferentes modelos de inflamação *in vivo*, como dor abdominal induzida por ácido acético e edema de pata induzido por carragenina, onde notou-se que a espécie apresentava propriedades analgésicas e anti-inflamatórias no sistema

nervoso periférico e central e na inflamação aguda. A atividade analgésica periférica tem sido demonstrada pelos efeitos inibidores das contorções abdominais e o efeito na inflamação aguda tem sido demonstrado pela diminuição do edema da pata. O processo inflamatório compreende uma série de respostas imunes não específicas que podem ocorrer em reação a diferentes lesões (FERRERO-MILIANI *et al.*, 2007) e a busca por compostos derivados de algas marinhas e que atuam nesse processo são relevantes na terapia farmacológica.

Compostos como alcaloides, indóis e polissacarídeos sulfatos isolados de algas verdes já foram apresentados como moléculas potentes com ações anti-inflamatórias (BAMIAS; COMINELLI, 2007; CARNEIRO *et al.*, 2014). Assim, os metabólitos anti-inflamatórios das algas desempenham um papel fundamental na terapia, uma vez que podem ser utilizados em processos de purificação e/ou síntese compostos por análogos com atividade anti-inflamatória profunda e de efeitos tóxicos reduzidos (FERNANDO *et al.* 2016).

Araújo *et al.* (2016) analisou uma fração polissulfeta de algas *Ulva lactuca* para suas atividades analgésicas e anti-inflamatórias, e demonstrou-se que a amostra em sua menor concentração apresentou uma resposta visceral nociceptiva induzida pelo ácido acético, de modo que, à medida que a concentração aumentava, sua resposta nociceptiva estava diminuindo, diferentemente da apresentada neste estudo, onde apresentavam respostas nociceptivas mais altas segundo as respostas nociceptivas concentrações estavam aumentando.

O teste de contorção abdominal induzido por ácido acético é usado para avaliar a atividade analgésica inespecífica para várias substâncias de ação central e periférica, uma vez que ativam diretamente nociceptores viscerais e somáticos que ineram o fenômeno e induzem inflamação e são sensíveis às classes terapêuticas de anti-inflamatórios não esteroides (NSAID) e opioides (COLLIER *et al.*, 1968; STEPANOVIC-PETROVIC *et al.*, 2008).

Além disso, o modelo experimental de edema de pata induzido por carragenina é usado para detectar potenciais agentes anti-inflamatórios que atuam contra mediadores de inflamação aguda, uma vez que é um modelo de duas fases onde a primeira fase é mediada por histamina, serotonina, citocinas e liberação de quinas, e a segunda fase é definida pela resposta à prostaglandina e liberação de substância de reação lenta (COSTA *et al.* 2020; ROCHA *et al.* 2006; SALVEMINI *et al.* 1996). Como o teste de contorção abdominal induzido por ácido acético não é um teste específico (RIBEIRO *et al.* 2014), o teste de edema da pata foi aplicado.

Os resultados encontrados para a *Chamaedoris peniculum* sobre os modelos in vivo demonstram o grande potencial da espécie em processos inflamatórios, sugerindo a aplicabilidade da espécie como um insumo farmacêutico ativo no desenvolvimento de novos

fármacos para inflamação. Esse efeito pode ser atribuído à constituição metabólica encontrada na espécie, onde ácidos graxos e galactanos sulfatos têm ação anti-inflamatória.

## 7 CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos e do potencial biotecnológico apresentado pela espécie vegetal, fica clara a necessidade de investigar ativos naturais da vida marinha. O perfil fitoquímico apresentado pela espécie apresentou metabólitos relevantes para diversas atividades de interesse industrial, cosmológico, farmacêutico e relacionados. A presença significativa de atividade anti-inflamatória, analgésica e ausência de citotoxicidade demonstrou o potencial farmacêutico da espécie *Chamaedoris peniculum*. Dado o baixo número de estudos biotecnológicos relacionados a esta espécie marinha, é evidente a necessidade de novos testes que possam elucidar as diversas outras propriedades possíveis da espécie e do gênero. Portanto, este trabalho contribui para a redução da lacuna entre a distribuição global da espécie e o baixo número de estudos relacionados à sua composição e seu perfil derivados de sua distribuição em diversos ecossistemas marinhos e as diferentes expressões metabólicas decorrentes dessa distribuição

## REFERÊNCIAS

- ADENIYI, O. M.; AZIMOV, U.; BURLUKA, A. Algae biofuel: current status and future applications. **Renewable and sustainable energy reviews**, v. 90, p. 316-335, 2018.
- ALMEIDA, C. M. et al. Nocicepção em Peixes: Uma Revisão Sistemática. 2018.
- ALVES, F. L.; JÚNIOR, A. B.; HOFFMANN, A.. Antinociception in piauçu fish induced by exposure to the conspecific alarm substance. **Physiology & Behavior**, v. 110, p. 58-62, 2013.
- ARAÚJO, I. W. F. *et al.* Analgesic and anti-inflammatory actions on bradykinin route of a polysulfated fraction from alga *Ulva lactuca*. **International journal of biological macromolecules**, v. 92, p. 820-830, 2016.
- BAMIAS, G.; COMINELLI, F. Immunopathogenesis of inflammatory bowel disease: current concepts. **Current opinion in gastroenterology**, v. 23, n. 4, p. 365-369, 2007.
- BANNENBERG, G.; ARITA, M.; SERHAN, C. N. Endogenous Receptor Agonists: resolving inflammation. : Resolving Inflammation. The Scientific World Journal, [s.l.], v. 7, n. 1, p. 1440-1462, nov. 2007. Hindawi Limited.<http://dx.doi.org/10.1100/tsw.2007.188>.
- BASILIO, T. H. *et al.* Algas marinhas. In: BASILIO, T. H. (org.). **Biodiversidade e conservação das ilhas costeiras do litoral sul capixaba**. 1 ed. São Paulo: Lura Editorial, 2020. p. 72-101.
- BRASILEIRO FILHO, G. **Bogliolo patologia**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017
- CARNEIRO, J.G. *et al.* Peripheral Antinociception and Anti-Inflammatory Effects of Sulphated Polysaccharides from the Alga *Caulerpa mexicana*. **Basic & clinical pharmacology & toxicology**, v. 115, n. 4, p. 335-342, 2014.
- COLLIER, H. O. *et al.* The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in the mouse. **British journal of pharmacology and chemotherapy**, v. 32, n. 2, p. 295, 1968.
- COUTAUX, A. *et al.* Hyperalgesia and allodynia: peripheral mechanisms. **Joint Bone Spine**, v. 72, n. 5, p. 359-371, 2005.
- CORNISH, M. L.; GARBARY, D. J. Antioxidants from macroalgae: potential applications in human health and nutrition. **Algae**, v. 25, n. 4, p. 155-171, 2010.
- COSTA, W. K. *et al.* Essential oil from *Eugenia stipitata* McVaugh leaves has antinociceptive, anti-inflammatory and antipyretic activities without showing toxicity in mice. **Industrial Crops and Products**, v. 144, p. 112059, 2020.

CREED, M. *et al.* Rhodophyceae in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2012/FB099625>, 2012.

DUBIN, A. E. *et al.* Nociceptors: the sensors of the pain pathway. **The Journal of clinical investigation**, v. 120, n. 11, p. 3760-3772, 2010.

DURRENBERGER, P. *et al.* Inflammatory pathways in Parkinson's disease; a BNE microarray study. **Parkinson's disease**, v. 2012, 2016.

EIKELENBOOM, P. *et al.* Whether, when and how chronic inflammation increases the risk of developing late-onset Alzheimer's disease. *Alzheimer's research & therapy*, v. 4, n. 3, p. 1-9, 2012.

FERNANDO, I.P.S.; NAH, J.; JEON, Y.. Potential anti-inflammatory natural products from marine algae. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 48, p. 22-30, 2016.

FERRERO-MILIANI, L. *et al.* Chronic inflammation: importance of NOD2 and NALP3 in interleukin-1 $\beta$  generation. **Clinical & Experimental Immunology**, v. 147, n. 2, p. 227-235, 2007.

FRANKS, A.L., SLANSKY, J.E., 2012. Multiple associations between a broad spectrum of autoimmune diseases, chronic inflammatory diseases and cancer. **Anticancer Res.** 32, 1119–1136.

GERALDO, J. M.; ALFENAS, R. C. G. Papel da dieta na prevenção e no controle da inflamação crônica: evidências atuais. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, [s.l.], v. 52, n. 6, p.951- 967, ago. 2008

HAQ, S. H. *et al.* Antioxidant, anticancer activity and phytochemical analysis of green algae, *Chaetomorpha* collected from the Arabian Gulf. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 1-7, 2019.

HUANG, G. *et al.* Anti-inflammatory effects of ethanolic extract of *Antrodia salmonea* in the lipopolysaccharide-stimulated RAW246.7 macrophages and the  $\lambda$ -carrageenan-induced paw edema model. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, n. 5, p. 1485-1493, 2012.

JIMENEZ-LOPEZ, C. *et al.* Main bioactive phenolic compounds in marine algae and their mechanisms of action supporting potential health benefits. **Food chemistry**, v. 341, p. 128262, 2021.

KUMAR, Vinay *et al.* Robbins patologia básica. Elsevier Brasil, 2008.

LE BARS, D.; GOZARIU, M.; CADDEN, S. W. Animal models of nociception. **Pharmacological reviews**, v. 53, n. 4, p. 597-652, 2001.

LELIAERT, F. *et al.* Systematics of the green macroalgal genus *Chamaedoris* Montagne (Siphonocladales), with an emended description of the genus *Struvea* Sonder. **Phycologia**, v. 46, n. 6, p. 709-725, 2007.

MAJEWSKA, M. *et al.* Does diclofenac act like a photosynthetic herbicide on green algae? *Chlamydomonas reinhardtii* synchronous culture-based study with atrazine as reference. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 208, p. 111630, 2021.

MESADRI, Juliana; WAGNER, Roger; FAGUNDES, Mariane Bittencourt. Potencial das microalgas na indústria farmacêutica. **Microalgas: potenciais aplicações e desafios**, p. 45-62, 2021.

MOO-PUC, R.; ROBLEDO, D.; FREILE-PELEGRIN, Y.. Improved antitumoral activity of extracts derived from cultured *Penicillus dumetosus*. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 10, n. 2, 2011.

MOSDAM, T.J.J.I.M. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxic assay. **J. Immunol. Methods**, v. 65, p. 55-63, 1983.

PEREIRA, K. F.; JESUS, P. B.; NUNES, J. M. C. Biodiversity of marine benthic macroalgae from the revizee program. **Rev. Saúde e Biol.**, v. 14, n. 2, p. 8-17, 2019.

QUEIROZ, A. C. *et al.* The antinociceptive and anti-inflammatory activities of *Piptadenia stipulacea Benth.*(Fabaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 128, n. 2, p. 377-383, 2010.

RIBEIRO, N. A. *et al.* Sulfated polysaccharides isolated from the green seaweed *Caulerpa racemosa* plays antinociceptive and anti-inflammatory activities in a way dependent on HO-1 pathway activation. **Inflammation Research**, v. 63, n. 7, p. 569-580, 2014.

ROCHA, A.C.C. *et al.* Relevance of tumour necrosis factor- $\alpha$  for the inflammatory and nociceptive responses evoked by carrageenan in the mouse paw. **British journal of pharmacology**, v. 148, n. 5, p. 688, 2006.

SALVEMINI, D. *et al.* Nitric oxide: a key mediator in the early and late phase of carrageenan-induced rat paw inflammation. **British journal of pharmacology**, v. 118, n. 4, p. 829-838, 1996.

SANTOS, J. S. S. *et al.* Seasonal Evaluation of the Impacts of Coastal Urbanization on Seaweed Communities on the Coast of Pernambuco, Brazil. **Braz. J. of Develop.**, v. 6, n. 7, p. 42905-42938, 2020.

SIMÕES, C. M. O.. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2001.

SOARES, A. R. *et al.* Antiviral activity of extracts from Brazilian seaweeds against herpes simplex virus. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 22, p. 714-723, 2012.

SOARES, N. *et al.* Técnicas de prospecção fitoquímica e sua importância para o estudo de biomoléculas derivadas de plantas. **Enciclopédia Biosfera**, v. 13, n. 24, 2016.

STEPANOVIC-PETROVIC, R. M. *et al.* The antinociceptive effects of anticonvulsants in a mouse visceral pain model. **Anesthesia & analgesia**, v. 106, n. 6, p. 1897-1903, 2008.

TEXEIRA, V. L. Produtos Naturais de Algas Marinhas Bentônicas. **Rev. Virtual Quim.**, v. 5, n. 3, p. 343-362, 2013.

UCHOA, F. T. *et al.* Preclinical pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation of thiazolidinone PG15: an anti-inflammatory candidate. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 61, n. 3, p. 339-345, 2009.

VASCONCELOS, B. M. F.; GONÇALVES, A. A. Macroalgae and their uses -alternatives for brazilian industries. **Revista Verde**, v. 8, n. 5, p. 125 - 140, 2013.

WINTER, C. A.; RISLEY E.A.; NUSS G.W. Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for antiinflammatory drugs. **Proc Soc Exp Biol Med**, v. 111, p. 544-547, 1962.

XU, Kaiwei *et al.* The impact of seasonal variations about temperature and photoperiod on the treatment of municipal wastewater by algae-bacteria system in lab-scale. **Algal Research**, v. 54, p. 102175, 2021.

ZBAKH, H. *et al.* Insights on the anti-inflammatory and antitumor activities of extracts from the marine green alga *Codium decorticatum*. **European Journal of Integrative Medicine**, v. 37, p. 101170, 2020.

ZUBIA, M.; ROBLEDO, D.; FREILE-PELEGRIN, Y. Antioxidant activities in marine macroalgae from the coasts of Quintana Roo and Yucatan, Mexico. **Journal of Applied Phycology**, v. 19, n. 5, p. 449-458, 2007.