



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO - UFPE
CENTRO DE CIÊNCIAS DA NATUREZA - CCN
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA FUNDAMENTAL – DQF
PROGRAMA DE PÓS – GRADUAÇÃO EM QUÍMICA - PPGQ

KATIANE CRUZ MAGALHÃES XAVIER

**MACROALGAS DO LITORAL PERNAMBUCANO: Caracterização e perfil
fitoquímicos dos extratos etanólico, aquoso, hidroalcoólico e aplicações biotecnológicas**

RECIFE-PE

2025

KATIANE CRUZ MAGALHÃES XAVIER

**MACROALGAS DO LITORAL PERNAMBUCANO: Caracterização e perfil
fitoquímicos dos extratos etanólico, aquoso, hidroalcoólico e aplicações biotecnológicas**

Tese apresentada ao programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para obtenção do título de Doutora em Química.
Área de Concentração: Química Orgânica

Orientador: Prof. Dr. Severino Alves Junior

Coorientador: Dr. Rômulo Carlos Dantas da Cruz

RECIFE-PE

2025

FOLHA CATALOGRÁFICA

Catálogo de Publicação na Fonte. UFPE - Biblioteca Central

Xavier, Katiane Cruz Magalhães.

Macroalgas do litoral Pernambucano: caracterização e perfil fitoquímicos dos extratos etanólico, aquoso, hidroalcoólico e aplicações biotecnológicas / Katiane Cruz Magalhães Xavier. - Recife, 2025.

154f.: il.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO, Centro de Ciências da Natureza, Pós-graduação em Química.

Orientação: Severino Alves Junior.

Coorientação: Rômulo Carlos Dantas da Cruz.

Inclui referências e apêndices.

1. Algas marinhas; 2. Fitoquímicos; 3. Inseticida; 4. Aedes aegypti; 5. Efeito proliferativo. I. Alves Junior, Severino. II. Cruz, Rômulo Carlos Dantas da. III. Título.

UFPE-Biblioteca Central

KATIANE CRUZ MAGALHÃES XAVIER

**MACROALGAS DO LITORAL PERNAMBUCANO: Caracterização e perfil
fitoquímicos dos extratos etanólico, aquoso, hidroalcoólico e aplicações biotecnológicas**

Tese apresentada ao programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para obtenção do título de Doutora em Química.
Área de Concentração: Química Orgânica

Aprovada em: 10/03/2025

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 **SEVERINO ALVES JUNIOR**
Data: 19/03/2025 18:16:16-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Severino Alves Júnior (Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco

Documento assinado digitalmente
 **IVANI MALVESTITI**
Data: 16/03/2025 21:45:09-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Ivani Malvestiti (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Documento assinado digitalmente
 **RICARDO OLIVEIRA DA SILVA**
Data: 18/03/2025 10:47:56-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Ricardo Oliveira da Silva (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

Documento assinado digitalmente
 **KARINE DA SILVA CARVALHO**
Data: 18/03/2025 11:14:11-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dra. Karine da Silva Carvalho (Examinador Externo)
Instituto Federal da Paraíba -IFPB

Documento assinado digitalmente
 **VALDILEIA TEIXEIRA UCHOA**
Data: 18/03/2025 15:48:04-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dra. Valdiléia Teixeira Uchôa (Examinador Externo)
Universidade Estadual do Piauí -UESPI

Dedicatória

*Aos meus pais,
meu porto seguro.*

Agradecimentos

- Meu agradecimento inicial é a Deus, por trazer fortalecimento, conforto e plenitude nos momentos de limitações.
- A meus pais José Joaquim Xavier e Maria da Cruz Mourão Xavier pela vida, incentivos e dedicação.
- A meus irmãos Ana Lúcia, Francisco, Eliane e Cristiane por me darem suporte familiar nesta etapa.
- A Rômulo C. Dantas da Cruz pela confiança, sugestões, orientação, paciência e contribuições dadas para a realização deste trabalho. Sem sua ajuda não teria conseguido! Obrigada também pelos conselhos!
- A Michel, Lidiane, Patrick e Dayane pela contribuição neste trabalho, trocas de experiências e conhecimentos!
- A Patrícia A. Rolim pela confiança, disposição, orientação e contribuição neste trabalho!
- Ao Professor Dr. Severino Alves Júnior- UFPE, pela confiança, orientações, paciência e pelas contribuições nesta pesquisa. Por todo o suporte necessário para a realização dos experimentos. Os meus sinceros agradecimentos!
- Aos pesquisadores do laboratório BSTR Manu, Maria, Cecília, Júlia, Dominique, Brenda, Barbara, Braulio, André, Tadeu, Leonis, Yuri e Yago obrigada pela alegria e disposição em ajudar e tornar o ambiente ainda mais agradável.
- Aos meus amigos do BSTR, Anna Cláudia, Edielen, Andreza, Ivaldo, Julie, Giovanna e Indira pela recepção e ajuda que sempre me deram.

RESUMO

As algas marinhas são fontes de metabólitos naturais diversificados que lhes permitem desempenhar uma variedade de atividades biológicas, podem ser usadas para a obtenção de novas formulações de produtos naturais com aplicações biotecnológicas e alternativas para a solução de problemas de saúde pública. Este estudo propôs avaliar propriedades biológicas dos extratos das macroalgas do litoral pernambucano com ênfases nas atividades larvicida e efeito de proliferação celular. A etapa de extração ocorreu nos meios aquoso, hidroalcoólico e etanólico, os extratos receberam codificações (SA, SH, SE, AA, AH, AE, CA, CH e CE) para as espécies *Sargassum vulgare*, *Alsidium triquetrum* e *Caulerpa racemosa*. A caracterização e dos fitoquímico ocorreu por meio de diferentes técnicas como, colorimétrica, espectrométricas no Uv-vis, no Infravermelho Transformada de Fourier (FTIR) e Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massa (LCMS). A citotoxicidade *in vitro* e o efeito proliferativo celular foi avaliada por meio de teste de cicatrização *in vitro*. A atividade inseticida dos extratos AH, AE, SE e CH foi avaliada sobre o *Aedes aegypti*, e o os efeitos tóxicos foi avaliado por meio da análise da morfologia externa e da atividade das enzimas desintoxicante nas larvas (amilase, tripsina e acetilcolinesterase). Foi encapsulado o extrato com atividade inseticida e a confeccionado filmes poliméricos do extrato com atividade migratória celular. Os resultados mostraram que os extratos apresentaram metabólitos secundários bem diversificados como clorofila, aminoácidos, ácidos graxos, flavonoides, carotenoides, vitamina, alcaloide, esteroide e outros, confirmados por análise de LCMS e em concordância com outras análises como a análise de UV-vis que mostrou bandas indicativas de presença de aminoácidos, compostos fenólicos. e clorofilas para a maiorias dos extratos e FTIR que mostrou estiramentos presença de grupos contendo OH de álcoois, fenóis e amins primárias e secundárias e presença de C-H de compostos aromáticos. Os extratos das algas não apresentaram toxicidade e foram biocompatíveis com células testadas. O efeito proliferativo e migratório celular foi observado em 24 horas nos extratos SA, SH, AA e AE, com taxas de 45, 75, 51, 84% de fechamento da fenda respectivamente e pode estar relacionado com a composição química. O sinergismo dos metabólitos secundários presentes nos extratos pode estar relacionado com o potencial larvicida contra o *Aedes Aegypti* que alcançaram 100 % de mortalidade em 24 horas para as amostras AE e AH e 95 e 50% de mortalidade em 48 horas para as SE e CH no bioensaios inseticidas. O induzimento tóxico dos extratos provocou alterações nos segmentos no tórax, abdome, brânquias anais, sifão e perda cílios, além de estimularem a atividade das enzimas amilase

tripsina e acetilcolinesterase. A liberação do extrato encapsulado com alginato de sódio foi abaixo de 40%. O FTIR do filme eletrofiado mostrou possível incorporação do extrato de alga na matriz. Esses resultados comprovam que os extratos das macroalgas investigadas do litoral pernambucano são fontes de novas formulações para o uso de inseticidas natural a materiais biotecnológicos.

Palavras-chave: algas, inseticida, *Aedes aegypti*, metabólitos, migração celular

ABSTRACT

Seaweeds are sources of diverse natural metabolites that allow them to perform a variety of biological activities. They can be used to obtain new formulations of natural products with biotechnological applications and alternatives for solving public health problems. This study aimed to evaluate the biological properties of extracts from the macroalgae *Sargassum vulgare*, *Alsidium triquetrum*, and *Caulerpa racemosa*, with a focus on larvicidal activities and cell proliferation effects. The extraction step was carried out in aqueous, hydroalcoholic, and ethanolic media, which were coded as SA, SH, SE, AA, AH, AE, CA, CH, and CE for the respective algae species. The characterization and phytochemical profile of the extracts were conducted using various techniques such as colorimetric analysis, UV-Vis spectrometry, Fourier-transform infrared (FTIR) spectroscopy, and Liquid Chromatography coupled with Mass Spectrometry (LC-MS). In vitro cytotoxicity and the proliferative effect on cells were evaluated using an in vitro wound healing test. The insecticidal activity was assessed on *Aedes aegypti*, observing the toxic effects of the extracts on the larvae, through external morphology analysis and the activity of amylase, trypsin, and acetylcholinesterase in the larvae. The encapsulation of the extract with insecticidal activity and the fabrication of films from the extract with migratory cell activity through electrospinning were proposed. The results demonstrated that the extracts contained well-diversified secondary metabolites such as chlorophyll, amino acids, fatty acids, flavonoids, carotenoids, vitamins, alkaloids, steroids, and others, confirmed by LC-MS analysis and consistent with other analyses, such as the colorimetric determination of total flavonoids, which confirmed the presence of flavonol compounds in all extracts. The UV-Vis analysis showed bands indicative of amino acids, phenolic compounds, and chlorophylls in most of the extracts; FTIR analysis revealed stretching bands for groups containing OH from alcohols, phenols, and primary and secondary amines, as well as C-H from aromatic compounds. The algae extracts did not show toxicity and were biocompatible with the tested cells. The proliferative effect and cell migration were observed within 24 hours in the SA, SH, AA, and AE samples, with closing rates of 45%, 75%, 51%, and 84%, respectively, and this may be related to the chemical composition. The synergy of the secondary metabolites present in the extracts may be related to the larvicidal potential against *Aedes aegypti*, which reached 100% mortality within 24 hours for AE and AH samples, and 95% and 50% mortality within 48 hours for SE and CH in the insecticidal bioassays. The toxic induction of the extracts caused changes in the thorax, abdomen, anal gills, siphon, and

loss of cilia, as well as stimulating the activity of amylase, trypsin, and acetylcholinesterase enzymes. The release of the extract encapsulated with sodium alginate was below 40%. The FTIR of the electrospun film showed a possible incorporation of the seaweed extract into the matrix. These results suggest that the extracts of the macroalgae investigated from the Pernambuco coastline are sources of new formulations for the use of natural insecticides and biotechnological materials.

Keywords: algae, insecticide, *Aedes aegypti*, metabolites, cell migration

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 2-1: Desenho esquemático da alga do gênero <i>Sargassum</i> com três ramos laterais. Fonte: Extraída de (COIMBRA, 2006).....	24
Figura 2-2: Desenho esquemático da alga <i>Alsidium triquetrum</i> detalhe das ramas e râmulas. Fonte: Extraída de (ARECES; CABRERA; DÍAZ-LARREA, 2022).....	25
Figura 2-3: Desenho esquemático da alga <i>Caulerpa racemosa</i> com ramos que se expandem em direção ao ápice dispostos de forma imbricada.	26
Figura 2-4: Estruturas da caulerpina (1), ácido caulerpinico (2) e caulerpenina (3). Extraída de ALARIF et al., 2010.	28
Figura 2-5: Estrutura do alginato (4), fucoidan (5) agarose (6) ulvana (7). Extraída de (LIN, J.; JIAO; KERMANSHAHI-POUR, 2022).....	30
Figura 2-6: Estruturas fucosterol (9) e saringosterol (10)	32
Figura 2-7: Estruturas dos carotenoides (11), luteína (12), β -caroteno (13) e violaxantina (14).	37
Figura 2-8: Estrutura da caulerpicina.	37
Figura 2-9: Estrutura da kaempferol (15) e quercetina (16).....	38
Figura 3-1: Imagem da localização da Praia de Enseada dos Corais e das macroalgas selecionadas: A – <i>S. vulgare</i> , B – <i>A. triquetrum</i> e C – <i>C. racemosa</i> . Fonte: autoria própria ...	44
Figura 3-2: Esquema das etapas de extração	45
Figura 3-3: Etapas do Ensaio de determinação flavonoides totais	47
Figura 3-4: Esquema da etapa na Cultura de célula.	50
Figura 3-5: Esquema das etapas do ensaio de citotoxicidade <i>in vitro</i>	50
Figura 3-6: Esquema de representação do processo de eletrofiação. Fonte: Extraído de (BATISTA et al., 2020).....	53
Figura 3-7: Esquema do Bioensaio larvicida.....	54
Figura 3-8: Esquema da análise da morfologia externa das larvas.....	55
Figura 3-9: Esquema das etapas do Ensaio Enzimático.	57
Figura 3-10: Esquema das etapas de encapsulamento do extrato.....	58
Figura 4-1: Análise de UV-vis dos extratos das algas <i>S. vulgare</i> (A e B), <i>A. triquetrum</i> (C e D) e <i>C. racemosa</i> (E e F).	64
Figura 4-2: FTIR dos extratos das algas <i>S. vulgare</i> , <i>A. triquetrum</i> e <i>C. racemosa</i>	67

Figura 4-3: Estruturas dos ácidos graxos identificados nos extratos das algas <i>S. vulgare</i> , <i>A. triquetrum</i> e <i>C. Racemosa</i>	70
Figura 4-4: Estruturas dos aminoácidos identificados nos extratos das algas <i>S. vulgare</i> , <i>A. triquetrum</i> e <i>C. racemosa</i>	71
Figura 4-5: Estruturas de clorofilas identificadas nos extratos das algas <i>S. vulgare</i> , <i>A. triquetrum</i> e <i>C. racemosa</i>	72
Figura 4-6: Estruturas de terpenoides identificadas nos extratos das algas <i>S. vulgare</i> , <i>A. triquetrum</i> e <i>C. racemosa</i>	73
Figura 4-7: Estruturas dos flavonoides identificados nos extratos das algas <i>S. vulgare</i> , <i>A. triquetrum</i> e <i>C. racemosa</i>	74
Figura 4-8: Estruturas de alcaloides identificados nos extratos das algas <i>S. vulgare</i> , <i>A. triquetrum</i> e <i>C. racemosa</i>	75
Figura 4-9: Análise da viabilidade celular dos extratos aquoso, hidroalcoólico e etanólico das algas <i>S. vulgare</i> (A, B e C), <i>A. triquetrum</i> (D, E e F) e <i>C. racemosa</i> (G, H e I).	82
Figura 4-10: Fotomicrografia do efeito dos extratos das algas <i>S. vulgare</i> e <i>A. triquetrum</i> sobre a migração e proliferação celular.....	85
Figura 4-11: Imagens do filme preparados por eletrofiliação com o extrato (A) sem aumento da escala com aumento 20x em lente de lupa estereoscópica. Análise de FTIR das matrizes formada sem extrato (B) e com extrato de alga (C).	86
Figura 4-12: Imagens das larvas L3 de <i>Ae. aegypti</i> dos grupos (A) controle negativo, (B) positivo e exposta aos extratos (C) AE e (D) AH da alga <i>A. triquetrum</i> , (E) SE da alga <i>S. vulgare</i> e (F) CH da alga <i>C. racemosa</i> . Com detalhes de segmentos da cabeça e tórax (I), abdome (II) e das brânquias anais e sifão (III).	95
Figura 4-13: Efeito da ação da enzimática dos extratos (A)AE, (B) AH, (C) SE e (D) CH nas atividades da α -amilase sobre <i>Ae. aegypti</i> (L3).....	97
Figura 4-14: Efeito da ação da enzimática dos extratos (A)AE, (B) AH, (C) SE e (D) CH nas atividades da tripsina sobre <i>Ae. aegypti</i> (L3)	98
Figura 4-15: Efeito da ação da enzimática dos extratos (A)AE, (B) AH, (C) SE e (D) CH nas atividades da AChE sobre <i>Ae. aegypti</i> (L3)	99
Figura 4-16: Encapsulamento do extrato AE, (A) imagens das cápsulas antes da liberação e (C) e (B) após a liberação do extrato a 2% de alginato.	100
Figura 4-17: (A) absorvância do extrato liberado em 48 horas a 2% de alginato, (B) concentração do extrato liberado no meio pelas cápsulas com 2 e 4% de alginato (C) porcentagem de liberação cumulativa das capsulas com 2 e 4% de alginato.....	101

LISTA DE TABELA

Tabela 3-1: Códigos dos extratos das algas nos meios aquoso, hidroalcoólico e etanólico.....	45
Tabela 3-2: Ensaio colorimétrico para determinação qualitativa dos principais metabólitos presentes nos extratos.	46
Tabela 4-1: Análises qualitativas de substâncias fitoquímicas em diferentes extratos de <i>S. vulgare</i> , <i>A. triquetrum</i> e <i>C. racemosa</i>	61
Tabela 4-2: Quantificação de Flavonoides total	62
Tabela 4-3: Estiramentos vibracionais presentes nos extratos de algas reportados em outros estudos.	67
Tabela 4-4: Metabólitos encontrados nos extratos das algas <i>S. vulgare</i> , <i>A. triquetrum</i> e <i>C. racemosa</i> usando análise LC-MS no modo positivo	76
Tabela 4-5: Resultados da mortalidade de larvas de terceiro ínstar de <i>Ae. aegypti</i> expostas aos extrato etanólico (AE) e hidroalcoólico (AH) da alga <i>A. triquetrum</i>	88
Tabela 4-6: Concentrações letais dos extratos AE e AH da alga <i>A. triquetrum</i> em larvas do <i>Ae. aegypti</i>	89
Tabela 4-7: Resultados da mortalidade de larvas de terceiro ínstar de <i>Ae. aegypti</i> expostas ao extrato SE da alga <i>S. vulgare</i> e ao extrato CH da alga <i>C. racemosa</i>	91
Tabela 4-8: Concentrações letais do extrato SE da Alga <i>S. vulgare</i> e do extrato CH da alga <i>C. racemosa</i> em larvas do <i>Ae. aegypti</i> no tempo de exposição de 24 e 48 horas.	92

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA - Extrato aquoso de *Alsidium triquetrum*

AH - Extrato hidroalcoólico de *Alsidium triquetrum*

AE - Extrato de etanólico *Alsidium triquetrum*

AChE - Acetilcolinesterase

BApNA - N-benzoil-DL-arginil-p-nitroanilida

CA - Extrato aquoso de *Caulerpa racemosa*

CH - Extrato hidroalcoólico de *Caulerpa racemosa*

CE - Extrato etanólico de *Caulerpa racemosa*

DNS - ácido 3,5-dinitrossalicílico

DTNB - ácido 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoico

FBS - soro fetal bovino

FTIR - Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier

HPLC - Cromatografia líquida de alta eficiência

LC-MS - Cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa de alta resolução

CL - Concentração letal

OMS - Organização Mundial da Saúde

PBS - Solução salina tamponada com fosfato

SA - Extrato aquoso de *Sargassum vulgare*

SH - Extrato hidroalcoólico de *Sargassum vulgare*

SE - Extrato etanólico de *Sargassum vulgare*

UV-vis - Espectroscopia de luz ultravioleta (UV) e visível (Vis).

SUMÁRIO

RESUMO.....	7
ABSTRACT	9
1 INTRODUÇÃO	19
1.1 JUSTIFICATIVA	20
1.2 OBJETIVOS	20
1.2.1 Objetivo Geral	20
1.2.2 Objetivos Específicos	20
2 REVISÃO DA LITERATURA	23
2.1 ALGAS MARINHAS	23
2.2 CITOTOXICIDADE DAS ALGAS	27
2.3 INFLUÊNCIAS SAZONAIS NA COMPOSIÇÃO QUÍMICA.....	28
2.4 METABÓLITOS DAS ALGAS.....	30
2.5 TECNOLOGIAS DE EXTRAÇÃO DOS BIOATIVOS DAS ALGAS	34
2.6 ATIVIDADES BIOLÓGICAS DAS ALGAS MARINHAS	35
2.6.1 Atividades biológicas dos metabólitos de algas marinhas.....	35
2.6.2 Atividades biológicas específicas	38
3 METODOLOGIA	43
3.1 REAGENTES.....	43
3.2 LOCAL DE COLETA.....	43
3.3 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS	45
3.4 ANÁLISES DOS COMPOSTOS QUÍMICOS PRESENTES NOS EXTRATOS ..	46
3.4.1 Triagem fitoquímica preliminar.....	46
3.4.2 Quantificação do teor de flavonoides totais	47
3.4.3 Análise dos espectros dos extratos no UV-vis	48
3.4.4 Análise de Infravermelho (FTIR)	48
3.4.5 Análise de Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massas de alta resolução (LCMS).....	49
3.5 ANÁLISE DE CITOTOXICIDADE.....	49
3.5.1 Cultura Celular.....	50
3.5.2 Ensaios de Citotoxicidade	50
3.5.3 Ensaio de migração celular dos extratos SA, SH, AH e AE.....	51
3.6 PREPARO DE FILME POR ELETROFIAÇÃO	52

3.7	ATIVIDADE LARVICIDA	53
3.8	ANÁLISE MORFOLÓGICA DAS LARVAS.....	54
3.9	ENSAIOS ENZIMÁTICOS	55
3.9.1	Atividade da Amilase	55
3.9.2	Atividade da Tripsina.....	56
3.9.3	Atividade da AChE.....	56
3.10	ENCAPSULAMENTO DO EXTRATO.....	57
3.10.1	Produção das cápsulas	57
3.10.2	Ensaio de liberação	58
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	61
4.1	ANÁLISES DOS COMPOSTOS QUÍMICOS DOS EXTRATOS	61
4.1.1	Análise qualitativa dos fitoquímicos	61
4.1.2	Análise de Flavonoides totais.....	62
4.1.3	Análise de espectroscopia dos extratos no UV-vis	63
4.1.4	Análise dos extratos das algas no Infravermelho- FTIR.....	65
4.1.5	Análise de Cromatografia Líquida acoplada a Espectrometria de Massa de alta resolução (LC-MS).....	68
4.2	ANÁLISE DA VIABILIDADE CELULAR.....	82
4.2.1	Ensaio de migração celular	84
4.3	ANÁLISE DO FILME ELETROFIADO COM EXTRATOS DE ALGAS	85
4.4	ATIVIDADE INSETICIDA DOS EXTRATOS.....	87
4.4.1	Potencial larvicida da alga <i>A. triquetrum</i>	87
4.4.2	Potencial larvicida das algas <i>S. vulgare</i> e <i>C. racemosa</i>	90
4.5	ANÁLISE MORFOLÓGICAS DAS LARVAS DE <i>AE. AEGYPTI</i>	94
4.6	ENSAIOS ENZIMÁTICOS	97
4.7	ENCAPSULAMENTO DO EXTRATO.....	100
5	CONCLUSÕES	103
6	REFERÊNCIAS	104
	APÊNDICE A- Espectros MS/MS do íon padrão molecular detectado por LC-MS/MS em modo positivo para os extratos das algas <i>Sargassum vulgare</i> , <i>Alsidium triquetrum</i> e <i>Caulerpa Racemosa</i>	134
	APÊNDICE B – Dados de Massa dos extratos não identificados	148
	APÊNDICE C – Artigos Publicados com ação inseticida	151
	APÊNDICE D - Resumo simplificado estilo nota de imprensa.....	153

Capítulo 1

Introdução

1 INTRODUÇÃO

Os organismos marinhos são fontes potencialmente produtivas de metabólitos altamente bioativos que podem ser úteis no desenvolvimento de novos agentes farmacêuticos (GAMAL, 2011). As algas marinhas são recursos economicamente valiosos que são usadas para diversos fins comercial como, alimentos, fertilizantes, adubos, medicamentos, tratamento biológico de valor ecológico (GHOSH; BANERJEE; MITRA, 2011). São classificadas de acordo com as diferenças morfológicas das paredes celulares, bioquímica de seus pigmentos, dentre outros, sendo comum as agruparem em tres grupos, como, *Chlorophyceae* (verde), *Phaeophyceae* (marrom), *Rhodophyceae* (vermelho)(EHSAN *et al.*, 2021; MOUBAYED *et al.*, 2017).

Os metabólitos sintetizados pelas algas marinhas apresentam um amplo espectro de bioatividades, como atividades antimicrobiana, antioxidante, antienvelhecimento, anti-inflamatórias e anticancerígenas (AL-ENAZI *et al.*, 2018; CHEN; CHENG; LIANG, 2015; KUMAR *et al.*, 2022; MAHENDRAN *et al.*, 2022; MARTÍN-MARTÍN *et al.*, 2022). As algas são fontes alternativas naturais importantes aos inseticidas comerciais, por sintetizarem substâncias bioativas que podem atuarem contra os mosquitos, apresentando efeitos tóxicos, reguladores de crescimento, repelentes e inibidores de oviposição (ABDEL HALEEM *et al.*, 2022; DEEPAK *et al.*, 2019; KILIC *et al.*, 2021; PERUMAL *et al.*, 2022; VENKATESAN *et al.*, 2019; YU *et al.*, 2015).

As algas marinhas também vêm se destacando em cosmeceuticos com efeitos de toxicidade insignificantes (citotoxicidade, toxicidade reprodutiva, genotoxicidade, mutagenicidade, carcinogenicidade, etc.) em humanos e exibindo fortes benefícios para a pele (KALASARIYA; PEREIRA, 2022). Como organismos fotossintéticos naturais, as algas oferecem vantagens peculiares e distintas na promoção da cicatrização de feridas desafiadoras em microambiente hiperglicêmico do diabetes (MA *et al.*, 2024). Tendo abordagens promissoras como ingrediente ativo em curativo micróbio-hidrogel na promoção da proliferação celular e a cicatrização de feridas (CHEN *et al.*, 2022; HUANG *et al.*, 2022).

Os produtos naturais marinhos apresentam em sua composição química, haletos, sulfetos e nitretos, podendo ser mais competitivos em 'química verde' e proteção ambiental comparado aos produtos químicos sintéticos (SONG *et al.*, 2021). A composição química desse organismo depende não apenas da espécie, pois outros fatores podem influenciar na produção de metabólitos como, o período do tempo de coleta, o habitat, e das condições externas como

temperatura, intensidade de luz e concentração de nutrientes na água (KUMAR *et al.*, 2021; PIRES *et al.*, 2017).

1.1 JUSTIFICATIVA

Justifica-se o desenvolvimento desta pesquisa devido a importância das algas marinhas serem organismos ricos em diversidade de metabólitos que implicam em uma gama de bioatividades. Além do litoral pernambucano apresentar uma grande variedade de gêneros e espécies de macroalgas com atividades praticamente inexploradas e pode ser um campo para novas formulações na área farmacêutica e biotecnológicas.

Portanto, as algas marinhas podem ser alternativas para a resolução de problemas contra vetores de arboviroses, atuando como inseticida natural contra o mosquito da dengue, como também serem fontes de novos produtos com aplicação biotecnológicas na reparação e cicatrização tecidual. Ainda são escassos estudos identificando os metabólitos presentes nas espécies *Sargassum vulgare*, *Alsidium triquetrum* e *Carleupa Racemosa*, bem como, explorando as suas atividades.

Esta pesquisa pretende trazer novas informações sobre a composição química dos extratos aquoso, hidroalcoólico e etanólico das espécies *S. vulgare*, *A. triquetrum* e *C. Racemosa* do litoral pernambucano e as suas atividades, com foco na atividade inseticida sobre o *Ae. aegypti* e no efeito proliferativo celular e na cicatrização de feridas *in vitro*.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo Geral

Avaliar propriedades biológicas dos extratos nos meios etanólico, aquoso e hidroalcoólico das macroalgas do litoral pernambucano das espécies: *S. vulgare* (alga marrom), *A. triquetrum* (alga vermelha) e *C. racemosa* (alga verde) com ênfases nas atividades larvicida e efeito de proliferação celular.

1.2.2 Objetivos Específicos

- Obter extratos etanólico, aquoso e hidroalcoólico das macroalgas

- Determinar os principais metabólitos secundários presentes nos extratos por meios de diferentes análises, como: colorimétricas (quali e quantitativas), espectroscópicas UV-vis, infravermelho - FTIR e cromatográfica (LCMS).
- Verificar a citotoxicidade *in vitro* dos extratos etanólico, aquoso e hidroalcoólico.
- Avaliar a atividade larvícida dos extratos etanólico, aquoso e hidroalcoólico sobre o *Aedes aegypti*.
- Verificar os efeitos tóxicos provocados pelos extratos etanólico, aquoso e hidroalcoólico com atividade larvícida através da análise da morfologia externa das larvas.
- Avaliar o modo de ação dos extratos etanólico, aquoso e hidroalcoólico que apresentaram atividade larvícida por meio de ensaio enzimático (α -amilase, tripsina e acetilcolinesterase).
- Avaliar o efeito proliferativo celular dos extratos por meio do ensaio preliminar de raspagem *in vitro*.
- Encapsular o extrato com atividade larvícida e testar a sua liberação.
- Imprimir filmes com o extrato com efeito proliferativo celular em matriz polimérica com impressora de eletrofiação.

Capítulo 2

Revisão da Literatura

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 ALGAS MARINHAS

O termo 'algas' refere-se a um grupo diversificado de organismos eucarióticos e fotossintéticos, incluindo microalgas unicelulares e algas marinhas. Especificamente, as macroalgas, habitam zonas litorâneas, crescem quase exclusivamente nas águas rasas à beira-mar na zona intertidal, flutuando ou submersas em águas oceânicas tropicais dos prados marinhos rasos (PRADHAN *et al.*, 2022).

As macroalgas vivem em habitats complexos, estando expostas a condições extremas que levam à formação de radicais livres e outros agentes oxidantes. No entanto, a ausência de estrutura e dano fotodinâmico induzido sugere que suas células desses organismos possuem mecanismos para uma rápida adaptação, produzindo metabólitos secundários, que os protegem contra o estresse oxidativo (TZIVELEKA *et al.*, 2021).

As algas podem ser classificadas como organismos unicelulares ou multicelulares primitivos que contêm clorofila e outros pigmentos para fazer a fotossíntese por meio da captura da energia luminosa do sol que é convertida em energia química e armazenada na forma de amido e carboidratos (açúcares complexos) (BHAYANI *et al.*, 2021). As algas são agrupadas de acordo com os tipos de pigmentos que usam para a fotossíntese, a composição de suas paredes celulares, os tipos de compostos de carboidratos que armazenam energia (SINGH; SINGH, 2015).

Taxonomicamente, as algas marinhas são agrupadas em três filos principais: (1) *Phaeophyceae* (algas marrons), que são principalmente de cor marrom devido ao seu conteúdo de fucoxantina - pigmento xantofila fucoxantina; (2) *Chlorophyceae* (algas verdes) - dominadas principalmente pela clorofila 'a' e 'b', e outros pigmentos específicos de xantofila; e (3) *Rhodophyceae* (algas vermelhas) compostas principalmente por ficocianina e ficoeritrina (RENGASAMY *et al.*, 2020).

As algas marrons compreendem cerca de 1500 espécies que foram identificadas no ecossistema marinho (EHSAN *et al.*, 2021). São uma das poucas linhagens eucarióticas que evoluíram com multicelularidade complexa que possuem várias características-chave que lhes permitiram prosperar como organismos macroscópicos, incluindo adesão e comunicação célula a célula, diferenciação tecidual, transporte interno de açúcares e a capacidade de crescimento tridimensional exibindo notável variação morfológica entre as espécies (BRINGLOE *et al.*, 2020). São as maiores algas marinhas, em comparação a outras espécies e de forma

extremamente variável e seu habitat é similarmente zona intertidal como outras algas (BHAYANI *et al.*, 2021).

Entre as inúmeras algas marrom, as macroalgas do gênero *Sargassum* são caracterizadas pela presença de apressório, eixos principais e ramos laterais, que se diferenciam a partir dos eixos principais e formam a maior parte do talo ramos, semelhantes às folhas das angiospermas que apresentam uma nervura central, sendo denominados filóides, como visto na figura 1. São amplamente distribuídas em regiões temperadas quentes e subtropicais do mundo (COIMBRA, 2006).

A espécie *Sargassum vulgare*, C. Agardh, está presente geograficamente ao longo de todo o litoral compreendido entre os Estados do Maranhão e São Paulo (SANTOS FILHO, 2012). As algas desse gênero possuem um alto valor nutricional com notáveis benefícios para a saúde, e também são consideradas uma boa fonte de antioxidantes, vitaminas, fibras dietéticas (IBRAHIM *et al.*, 2020), além de estudos terem demonstrados que apresentam atividades antiviral (PLOUGUERNÉ *et al.*, 2013), antioxidante (RASTIAN *et al.*, 2007), anti-inflamatório (RASTIAN *et al.*, 2021), inseticida e antibactericida (TRIVEDI *et al.*, 2021) que as tornam uma fonte para múltiplas aplicações terapêuticas.

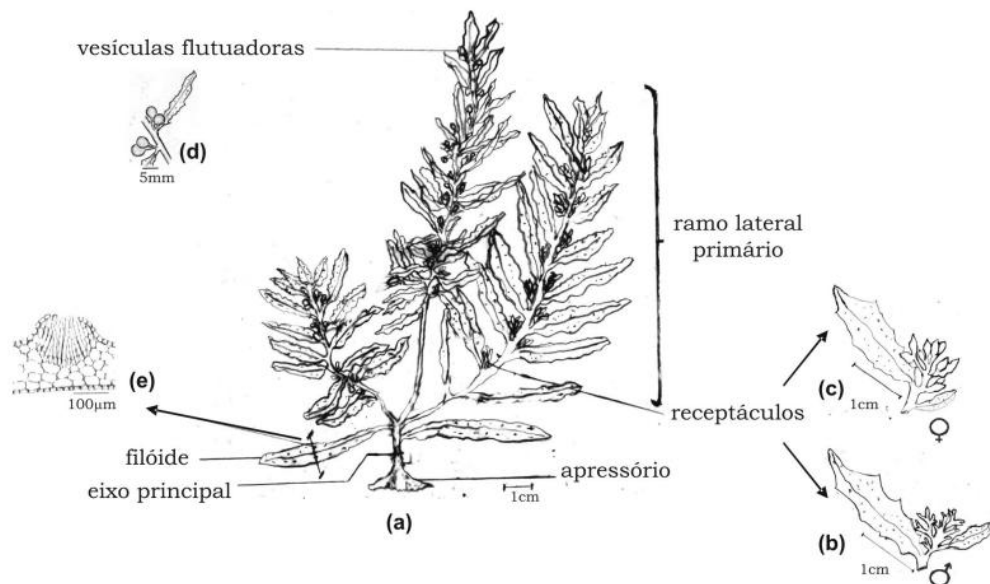


Figura 2-1: Desenho esquemático da alga do gênero *Sargassum* com três ramos laterais.

Fonte: Extraída de (COIMBRA, 2006).

As algas vermelhas são organismos eucarióticos capazes de se adaptar a diferentes tipos de ambientes, respondendo às mudanças que resultam na produção de diferentes metabólitos

secundários e compostos bioativos, como florotaninos e polissacarídeos (DAVID; BAHARULNIZAM; RAJABALAYA, 2022). Formam um conjunto diversificado de mais de 6.000 espécies e embora existam espécies unicelulares e com habitat em água doce, a maioria das algas vermelhas são marinhas e multicelular. Elas contêm plastídeos primários, ou cloroplastos derivados de uma origem cianobacteriana. Como tal, as algas vermelhas são alguns dos primeiros eucariontes fotossintéticos e fósseis de macroalgas encontrados já em 1,2 bilhões de anos (FREESE; LANE, 2017).

A espécie *Alsidium triquetrum* (S.G. Gmelin) Trevisan anteriormente identificada como *Bryothamnion triquetrum* (S.G.Gmelin) sua estrutura é composta de talo ereto, rígido, grosso, de coloração vermelho-escuro, medindo até 15 cm, não apresentando toxicidade (MAIA *et al.*, 2010).

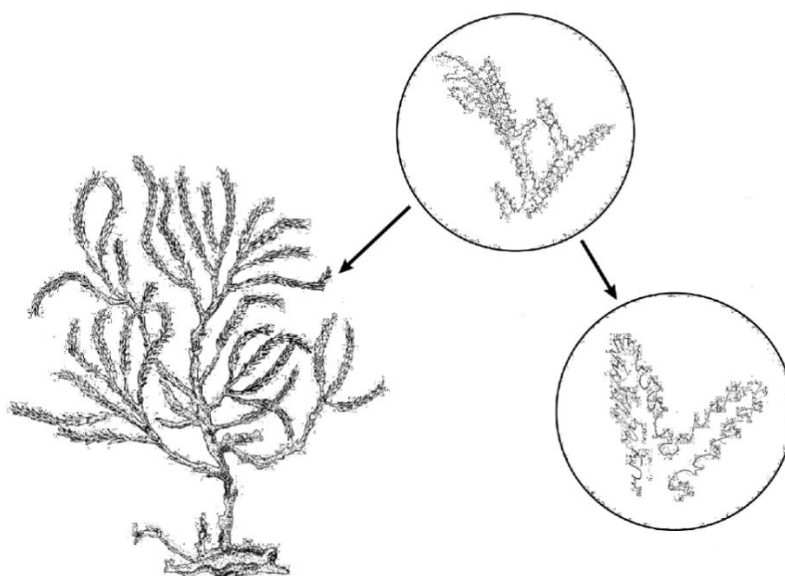


Figura 2-2: Desenho esquemático da alga *Alsidium triquetrum* detalhe das ramas e râmulas.

Fonte: Extraída de (ARECES; CABRERA; DÍAZ-LARREA, 2022)

A estrutura primária da lectina isolada dessa espécie de alga vermelha apresenta uma estrutura primária que se diferencia da sequência de aminoácidos de estruturas de lectina de origem vegetal e animal conhecidas, podendo ser uma nova família de lectinas (CALVETE *et al.*, 2000) que possuem a atividade anti-hiperglicêmica e antioxidante (VASCONCELOS *et al.*, 2025). Também são ricas em lisina e pode ser combinada com proteínas de cereais que não têm lisina (RAJA; KADIRVEL; SUBRAMANIYAN, 2022).

As algas verdes são um grupo grande e ecologicamente importante de eucariontes fotossintéticos oxigenados. Elas são diversas em termos de número de espécies, morfologia, bioquímica e ecologia (LELIAERT, 2019). Compreendem mais de 7000 espécies e são

encontradas principalmente em água doce com algumas em água marinha. Podem ser do tipo unicelulares e multicelulares, sendo esta última têm paredes celulares feitas principalmente de celulose com hemicelulose e carbonato de cálcio. Como outras espécies de algas, elas contêm pigmentos fotossintéticos clorofila a e b para sintetizar carboidratos, que são posteriormente armazenadas na forma de amido (EHSAN *et al.*, 2021).

A espécie *Caulerpa racemosa* (Forsskal) J.Agardh também comumente conhecida como 'uvas do mar', é uma alga marinha verde comestível amplamente distribuída por todo o Mar da China Meridional e em regiões tropicais formando prados densos contínuos em diferentes conjuntos bentônicos fotofilicos e ciafilicos dominados por várias espécies de algas, ervas marinhas, além de ser considerada uma espécie “modificador de habitat” uma vez que possui uma notável capacidade de retenção de sedimentos, devido aos intrincados tapetes multicamadas que pode formar, os quais podem, por sua vez, induzir o desenvolvimento de sedimentos anóxicos sob eles (YANG *et al.*, 2015).

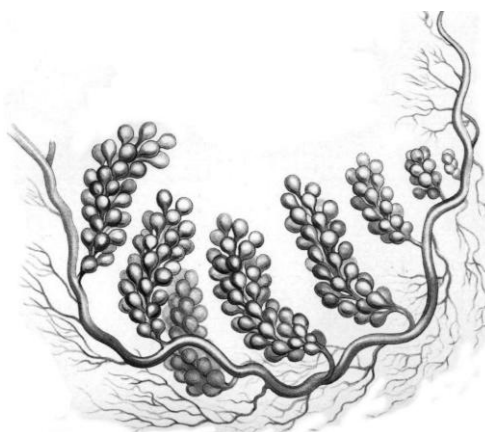


Figura 2-3: Desenho esquemático da alga *Caulerpa racemosa* com ramos que se expandem em direção ao ápice dispostos de forma imbricada.

Adaptado de: <https://commons.wikimedia.org/wiki/Caulerpa>. Acesso obtido em: 08/11/2023.

No Brasil, essa espécie de alga verde estar presente nos litorais do nordeste e sudeste (FERREIRA *et al.*, 2019) e forneceu atividade anti-inflamatória e antinociceptiva de extratos e polissacarídeo sulfatado purificado (RIBEIRO *et al.*, 2020; SOUZA *et al.*, 2009). A *C. racemosa* é considerada um alimento funciona, podendo ser consumida por humanos por conter compostos ativos como fibra alimentar insolúvel celulose e hemicelulose e metabólitos secundários, incluindo antioxidantes que desempenham um papel importante na prevenção da constipação, colite, hemorroidas e processos de oxidação benéficos à saúde (FITHRIANI, 2015).

2.2 CITOTOXICIDADE DAS ALGAS

Muitos experimentos realizados *in vitro* têm o propósito de determinar a citotoxicidade dos compostos para o uso farmacêuticos ou cosméticos. Pois a exigência de comprovação como não tóxicos ou projetados como agentes anticâncer é crucial antes de serem liberados para comercialização. As definições de citotoxicidade variam dependendo da natureza do estudo, se as células são mortas ou simplesmente têm seu metabolismo alterado. O crescimento celular por sua vez, é geralmente considerado como o potencial regenerativo das células, medido pelo crescimento clonal (FRESHNEY, 2005).

Embora as algas marinhas e seus produtos tenham uma extensa gama de aplicações em produtos farmacêuticos, o seu uso clínico e industrial é limitado devido à suscetibilidade de absorção de poluentes (PRADHAN *et al.*, 2022). A toxicidade dos metabólitos das algas marinhas é comumente investigada por apresentar citotoxicidade com ação antiproliferativa em células tumorais (MINHAS *et al.*, 2024; PERMATASARI *et al.*, 2022; SMITA *et al.*, 2024). Um menor número de trabalho mencionam o efeito indutor e proliferativo celular de diferentes espécies de algas marinha (ALVES *et al.*, 2020; GHOSH *et al.*, 2024; LEE *et al.*, 2007; PANGESTUTI; KIM, 2011; YENDE; HARLE; CHAUGULE, 2014).

O gênero *Sargassum* é relatado em vários estudos por apresentar ação terapêutica potente contra células do câncer, pela avaliação da atividade citotóxica *in vitro* de extratos ou associado a nanopartículas, a viabilidade celular é reduzida com o aumento da concentração mostrando forte atividade contra diferentes linhagens de células (MARY; VINOTHA; PRADEEP, 2012; MOSTAFA *et al.*, 2024; PALANISAMY *et al.*, 2017; VASEGHI *et al.*, 2018).

O efeito antiangiogênico *in vitro* na apoptose e atividade antitumoral por polissacarídeos sulfatados extraídos da alga marrom *S. vulgare* foi observado, e os resultados demonstraram potencial ação terapêutica antitumoral, exibindo efeito antiangiogênico e citostático, bem como atividade citotóxica em células tumorais (GUERRA DORE *et al.*, 2013b).

As atividades proliferativa e migratória celular foram observadas em células L929 quando tratadas com extrato da espécie *Sargassum ilicifolium* em experimentos *in vitro*. O uso tópico do extrato aquoso mostrou propriedades de cicatrização de feridas, e em ensaio de ferida induzida em grupos de camundongos. A análise histopatológicas revelaram que o processo de cicatrização foi significativamente melhorado no grupo de camundongos tratados oralmente com o extrato, demonstrando possuir propriedades promissoras de cicatrização de feridas *in vitro* e *in vivo* (PREMARATHNA *et al.*, 2021)

As algas verdes e vermelhas têm potenciais citotoxicidades mais baixas em comparação com as algas marrons (PRADHAN *et al.*, 2022). As algas vermelhas do gênero *Laurencia* e algas marrons da família *Dictyotaceae*, são mencionadas por serem responsáveis por mais de 500 compostos dos quais muitos desses são conhecidos por serem tóxicos e possuírem ação antimicrobiana. Apesar de não haver relatos de intoxicação humana com algas verdes, o gênero *Caulerpa* possui dois metabólitos comuns, como a caulerpina (1), ácido caulerpinico (2) e caulerpenina (3), que são citados como constituintes tóxicos em espécies do gênero (ALARIF *et al.*, 2010; HIGA; KUNIYOSHI, 2000; KASE; CALUMPONG; RUPIDARA, 2020).

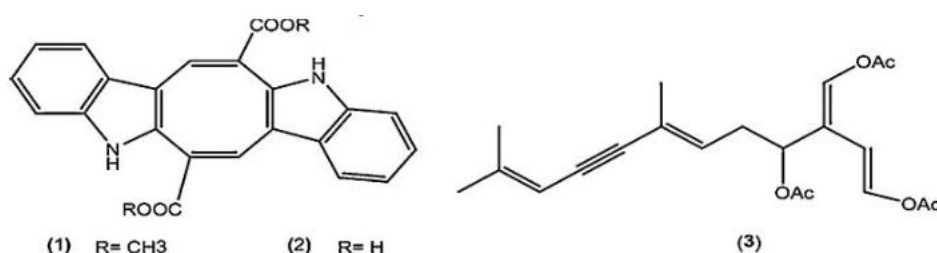


Figura 2-4: Estruturas da caulerpina (1), ácido caulerpinico (2) e caulerpenina (3). Extraída de ALARIF *et al.*, 2010.

A citotoxicidade *in vitro* da ulvana extraída da alga *Ulva lactuca* foi avaliada em células semelhantes a fibroblastos e os efeitos desse polissacarídeo foram comparados ao ácido hialurônico. Os resultados foram promissores em termos de citotoxicidade, sugeriram que a ulvana pode ser considerada não tóxica na faixa de concentrações estudadas (ALVES; SOUSA; REIS, 2013).

2.3 INFLUÊNCIAS SAZONAIS NA COMPOSIÇÃO QUÍMICA

As algas marinhas apresentam grande variação nos teores de nutrientes, os quais estão relacionados com os parâmetros ambientais que em sua maioria variam de acordo com as estações e mudanças nas condições ecológicas, que tanto podem estimular quanto inibir a biossíntese de vários nutrientes (MARINHO-SORIANO *et al.*, 2006). As condições ambientais e físicas como, o habitat, luz, substrato, topografia, temperatura, salinidade, umidade, marés, ondas, vento, correntes e poluentes predominantes no corpo aquático, determinam a ocorrência e a distribuição, bem como o crescimento, abundância e a constituição química das algas marinhas (KUMAR *et al.*, 2021).

As variações sazonais dos compostos fenólicos, por exemplo, são específicas para cada espécie de algas, mas os valores máximos são geralmente observados durante o verão e os valores baixos durante o outono e inverno. A variação de curto prazo, também é outro fator que influencia na baixa concentração de compostos fenólicos, uma vez que ocorrem diariamente mudanças na temperatura do ar quando as algas são expostas às marés. Os altos níveis de irradiância também influenciam na diminuição da concentração de compostos fenólicos (ABDALA-DÍAZ *et al.*, 2006).

Os fatores sazonais causam alterações nos parâmetros da qualidade da água, como concentração de nutrientes, turbidez, sólidos dissolvidos e oxigênio dissolvido, afetando assim, o ambiente marinho que por sua vez, alteram os parâmetros bioquímicos das algas marinhas, como o crescimento, produção de biomassa, teores de nitrogênio, fósforo, potássio, pigmentos fotossintéticos e atividades antioxidantes. As algas são muito sensíveis às tais mudanças ambientais devido às suas respostas rápidas, mesmo a uma pequena mudança no ambiente aquático, o que as tornam muito adequadas para uso como um indicador ecológico em ecossistemas costeiros (ANSARI; GHANEM, 2017).

Kumar *et al.*, (2015) analisaram a composição bioquímica de diferentes partes vegetativas da espécie *Sargassum wightii* durante a mudança das estações quanto ao seu valor nutricional em condições de coleta, diferenças sazonais com a salinidade variando de 27‰ (novembro) a 34 ‰ (abril) e temperatura da água variando de 27 °C a 36 °C. Os resultados demonstraram que as propriedades químicas variaram em função da sazonalidade das partes vegetativas, as concentrações de carboidratos e proteínas foram mais altas nas amostras quando coletadas em março e os valores mínimos foram registrados nas coletas de julho a setembro (KUMAR; SAHOO; LEVINE, 2015).

A composição bioquímica das algas marinhas é bem diversificada entre e dentro dos táxons, ou seja, a bioquímica de espécies de algas intimamente relacionadas é geralmente mais similar do que a de espécies não relacionadas. No entanto, a composição bioquímica de cada membro dentro de uma única espécie é distinta, pois a maioria dos parâmetros ambientais variam com as estações e com mudanças nas condições ecológicas, o que pode estimular ou inibir a biossíntese de vários nutrientes. Isso torna quase impossível revisar a vasta diversidade química que existe nas algas marinhas como um grupo ou seus compostos (KUMAR *et al.*, 2021).

Quantificar a composição químicas das algas marinhas sob a perspectivas de diferentes parâmetros (físico-químico ambientais, fisiológicos e bioquímicos) que podem influenciar na produção ou inibição a biossíntese de nutrientes das algas, parece apontar o caminho para

As macro e microalgas são atualmente reconhecidas fontes de lipídios com grande qualidade nutricional e bioatividades atrativas para promoção da saúde humana e prevenção de doenças (GUIL-GUERRERO, 2007; PLOUGUERNÉ *et al.*, 2013). A fração lipídica das macroalgas representa de 1 a 8% da matéria seca, enquanto nas microalgas, o conteúdo lipídico varia de 10 a 50% da matéria seca, mas pode atingir valores mais elevados ($\geq 70\%$), dependendo das condições de crescimento. Cada alga apresenta um lipidoma específico que compreende uma composição particular em ácidos graxos e em lipídios polares - glicolipídios, fosfolipídios e lipídios betaína (MARQUES *et al.*, 2023). Os lipídios dos tipos glicolipídios (monogalactosildiacilgliceróis - MGDG, digalactosildiacilgliceróis - DGDG e sulfoquinovosildiacilgliceróis - SQDG) sulfoquinovosildiacilgliceróis (SQDGs) foram extraídos e isolados da alga *S. vulgare* e são mencionados como novos agentes antiincrustantes promissores e responsável pela atividade anti-herpes (PLOUGUERNÉ *et al.*, 2013, 2020).

Apesar da baixa concentração total de lipídios que as algas marinhas contêm, elas têm uma quantidade significativa de ácidos graxos insaturados que são essenciais para o bem-estar humano como, ômega-3 e -6 (ω -3 e ω -6, respectivamente), ácidos graxos poliinsaturados e ácidos graxos altamente insaturados, bem como ácidos graxos monoinsaturados (ROCHA *et al.*, 2021).

Os esteroides naturais pertencem à classe dos lipídios únicos que foram isolados de várias espécies de *Sargassaceae* e novos esteróis contendo C 23 -, C 27 - e C 29 -, caracterizados por grupos ceto e hidroxí foram obtidos de *Cystoseira sp.*, *Sargassum sp.* e *Turbinaria sp.* (PENG *et al.*, 2024). Os extratos de algas marinhas são geralmente ricos em hormônios de crescimento naturais, nutrientes, minerais vestigiais e entre outros compostos. A remoção de hormônios esteroides do sistema de maricultura usando algas marinhas (*Caulerpa lentillifera*, *Ulva pertusa*, *Gracilaria lemaneiformis* e *Codium fragile*) é mencionada, obtendo - se diferentes níveis de 17 β -estradiol quanto o 17 α -etinilestradiol removidos pelas algas marinhas (LU; ZHANG; WU, 2021).

O valor nutricional das algas marinhas é principalmente atribuído à presença de fitoesteróis que são definidos como compostos graxos produzidos por plantas e contribuem notavelmente como o principal constituinte lipídico da membrana biológica das células vegetais. O fucosterol (9), saringosterol (10) e seus derivados são os fitoesteróis mais comuns, encontrados principalmente em algas marrons (SOHN *et al.*, 2021).

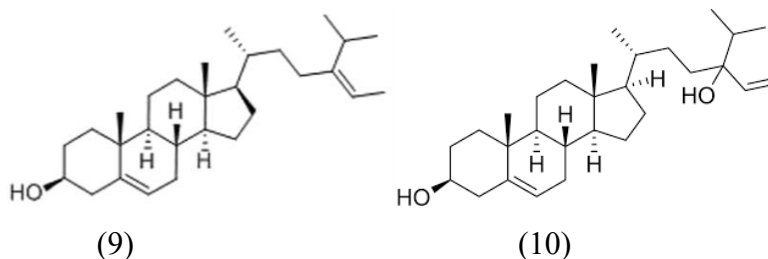


Figura 2-6: Estruturas fucosterol (9) e saringosterol (10)

Os terpenoides pertencem a uma classe metabólitos secundários mais ampla em diversidade disponíveis em algas marinhas, principalmente como mono-, di-, tri-, tetra-, mero- e sesquiterpenoides, que consistem em múltiplas unidades estruturais de isopreno (C₅), dependendo do número de unidades estruturais de isopreno contidas em sua estrutura química (CHEN *et al.*, 2024). Os tetraterpenoides que são principalmente carotenóides que são terpenoides de algas amplamente estudados e isolados de macro e microalgas, e que têm sido amplamente utilizados em indústrias farmacêuticas (FERDOUS; YUSOF, 2021).

Os carotenos e xantofilas seus derivados oxigenados como, astaxantina, fucoxantina, sifonaxantina, siphoneínam são considerados pigmentos fotossintéticos do metabolismo secundários que desempenham a função-chave no aparelho fotossintético e contribuem não apenas para a coleta de luz, mas também para a proteção e capacidade antioxidante das algas (YUAN, 2021). Fucoxantina é o carotenoide dominante nas algas marrons, que podem absorver o espectro de luz na faixa de 450–540 nm, e apresenta citotoxicidade celular significativa, e efeito anti-inflamatório que pode estar associado à sua citotoxicidade. (SARASWATI *et al.*, 2019).

Algas marinhas e microalgas são consideradas uma fonte viável de proteína, algumas espécies contêm níveis de proteína semelhantes aos de fontes tradicionais de proteína, como carne, ovo, soja e leite, consideradas uma fonte viável de proteína, com composição de aminoácidos essenciais (RAJA; KADIRVEL; SUBRAMANIYAN, 2022). As lectinas das algas marinhas possuem características únicas, como baixo peso molecular, estrutura monomérica, termoestabilidade, devido à presença de pontes dissulfeto, e alta afinidade por glicoproteínas em vez de monossacarídeos e a extraída da espécie *Alsidium triquetrum* é mencionada por atividades anti-inflamatórias (FONTENELLE *et al.*, 2018b) e cicatrizante (PINHEIRO, 2021).

Os aminoácidos semelhantes à micosporina (MAAs) são mais abundantes em espécies de *Rhodophyta* em comparação com *Chlorophyta* e *Phaeophyta* mas também são relatados em numerosas espécies de microalgas Cyanobacteria. São caracterizados por um núcleo aminociclo-hexenona ou hexenimina conjugado com a porção nitrogênio de um aminoácido ou

álcool. Esses metabólitos secundários incolores e solúveis em água foram isolados com massas moleculares de 508 e 612 Da, com estrutura de ligação dupla conjugada com absorção máxima entre 310 a 362 nm em que função protetora de UV se sobrepõem à irradiação UVB (YUAN, 2021).

Os compostos fenólicos são a classe de metabolitos secundários mais investigados nas algas marinhas por estarem presentes em quase todos os grupos e serem bem diversificados. Os compostos fenólicos podem ser considerados tanto metabólitos primários, por serem essenciais para a sobrevivência ou integridade estrutural das macroalgas; quanto metabólitos secundários desempenhando um papel defensivo contra estresses ambientais, pastoreio herbívoro, povoamento epífitas ou da radiação no ultravioleta UV (GAGER *et al.*, 2021).

Os compostos fenólicos são incluídos no sistema integrado de regulação de processos bioquímicos e bioenergéticos na célula vegetal. Uma ampla gama de efeitos biológicos dos polifenóis está associada às suas propriedades antioxidantes. Eles estão envolvidos na proteção da célula vegetal de fatores de estresse e na desintoxicação de espécies reativas de oxigênio, como superóxido ($O_2^{\bullet-}$) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2), radical hidroxila ($OH^{\bullet}$), oxigênio singlete (1O_2) e radical hidroperoxila ($HO_2^{\bullet}$). Frequentemente, o acúmulo de compostos polifenólicos na célula é considerado um indicador de estresse fisiológico (ZOLOTAREVA; MOKROSNOP; STEPANOV, 2019).

Compostos fenólicos de organismos marinhos são muito menos estudados do que aqueles de fontes terrestres, uma vez que sua diversidade e variabilidade estruturais exigem ferramentas analíticas modernas para quantificação e o fornecimento de informações sobre a estrutura complexa (MATEOS; PÉREZ-CORREA; DOMÍNGUEZ, 2020). De acordo com a estrutura química dos polifenóis, existem várias classes, como ácidos fenolcarboxílicos (ácidos hidroxibenzóicos, ácidos hidroxicinâmicos), flavonoides (flavonas, flavonóis, flavanonas, antocianinas), isoflavonoides (isoflavonas, cumestanos), estilbenos, lignanas e polímeros fenólicos (proantocianidinas – taninos condensados e hidrolisáveis) (ZOLOTAREVA; MOKROSNOP; STEPANOV, 2019).

Os alcaloides marinhos são obtidos de organismos marinhos, como algas verde-azuis e macroalgas. Os alcaloides de algas específicos incluem 2-feniletilamina, alcaloides halogenados e derivados de indol com diferentes substituições e funcionalidades (ALGHAZEER *et al.*, 2022). Alcaloides indólicos derivados de organismos marinhos mostram imenso potencial para aplicações terapêuticas do câncer. Um alcaloide bastante investigado de algas marinhas é caulerpina, este alcaloide bisindólico foi isolado em espécie do gênero *Caulerpa* e mais recentemente na espécie *Sargassum platycarpum* (ABDEL RHEEM *et al.*,

2021). A estrutura deste alcaloide foi identificada por diferentes métodos espectroscópicos e suas atividades investigadas (ESTEVES *et al.*, 2019; LIU *et al.*, 2013; PRAYOGO *et al.*, 2024; SOUZA *et al.*, 2009).

A análise de compostos de clorofila em algas marinhas tem sido restrita principalmente à presença de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila *c* e feoforbídeo *a* (CHEN, K. *et al.*, 2017). A primeira é a clorofila *a* é a molécula crucial para a fotossíntese através da passagem de seus elétrons energizados para moléculas, que sintetizam os açúcares. A clorofila *b* auxilia na fotossíntese é mais solúvel do que a clorofila *a* em solventes polares, devido ao seu grupo carbonila. A clorofila *c* é um pigmento acessório com uma função semelhante à clorofila. O feoforbídeo *a* é um dos produtos de clorofila de desmetalização da clorofila *a* que é formada em algas e plantas superiores. (SAIDE; LAURITANO; IANORA, 2020).

2.5 TECNOLOGIAS DE EXTRAÇÃO DOS BIOATIVOS DAS ALGAS

A extração e o isolamento de bioativos de macroalgas para fins de oferta na forma de nutracêuticos/alimentos funcionais é baseada em vários fatores, compatibilidade do método, natureza do solvente, rendimento, tempo necessário, pureza, custo, etc. Existem várias técnicas de extração, envolvendo solventes como água ou diferentes solventes orgânicos. Portanto, as técnicas de extração usadas que são mais rápidas, eficientes (considerando o rendimento), são: assistida por enzimas, assistida por ultrassom, assistida por micro-ondas, extração de fluido supercrítico, campo elétrico de pulso estão sendo exploradas para a extração de fitoquímicos de algas marinhas (KUMAR *et al.*, 2020).

Os métodos convencionais de pré-tratamento físico, incluindo secagem e moagem com ar quente, são geralmente empregados para modificar a permeabilidade das membranas celulares e acelerar a transferência de massa em algas marinhas. A secagem não só ajuda no armazenamento e transporte das algas, mas também afeta a extratibilidade dos compostos bioativos e sua qualidade. Os métodos de secagem mais comumente empregados incluem secagem solar, secagem com ar quente e liofilização (UMMAT *et al.*, 2021). No entanto, há relatos que o contato com o ar e as altas temperaturas durante a secagem ao sol e em estufa impactaram na composição nutricional das espécies *Sargassum muticum* e *Bifurcaria bifurcata*, reduzindo cerca de 50% os conteúdos fenólicos. A liofilização e o congelamento a -20 °C pareceram ser boas alternativas para conservar os extratos principalmente para compostos termossensíveis como compostos fenólicos (SHOW; YAN; LEE, 2021).

Os métodos de extração convencionais mais usados dependem das características do solvente utilizado (viscosidade, polaridade, tensão superficial, momento de dipolo e constante dielétrica), tratamento térmico e agitação/mistura mecânica. É desejável usar técnicas de extração seguras, acessíveis e ecológicas para extrair compostos bioativos de forma sustentável e eficiente (GOMEZ *et al.*, 2020). Isso não apenas aumentará os rendimentos com impacto mínimo na qualidade do produto final, mas também cumprirá os requisitos de rótulo limpo. O uso de solventes verdes obtidos de recursos renováveis foi proposto para substituir solventes perigosos (por exemplo, solventes derivados de petróleo). e se baseia na descoberta e no projeto de processos de extração que reduzem o consumo de energia, permitem o uso de solventes alternativos e produtos naturais renováveis e garantem um extrato/produto seguro e de alta qualidade (CHEMAT; VIAN; CRAVOTTO, 2012).

A técnica assistida por ultrassom é uma tecnologia economicamente viável, por ser rápida e direta. O ultrassom causa a colisão entre partículas em alta velocidade, um fenômeno descrito como cavitação de bolhas, que resulta em descamação, destruição e quebra de partículas da superfície das algas marinhas, acelerando o processo de difusão interna e transferência de massa. A extração por ultrassom não afeta a distribuição da massa molar e reduz o período de extração em quatro vezes. No entanto, o calor gerado pelo ultrassom pode desnaturar os compostos sensíveis ao calor, o que é uma limitação significativa desse método (RAJA; KADIRVEL; SUBRAMANIYAN, 2022).

2.6 ATIVIDADES BIOLÓGICAS DAS ALGAS MARINHAS

As algas marinhas são excelentes fontes de compostos biologicamente ativos e têm encontrado importância como nutracêuticos, cosméticos e como principais produtos farmacêuticos. Seus constituintes quando extraídos e isolados podem desempenhar importantes atividades tais como antibacteriana (KHAN; OMOLOSO, 2008), antidiabéticas (SHARIFUDDIN *et al.*, 2015), anti-inflamatória (ALE; MIKKELSEN; MEYER, 2012) anticancerígenas e anti proliferativas (AKKOL *et al.*, 2020; GUERRA DORE *et al.*, 2013), neuroprotetoras (FALLARERO *et al.*, 2006) e estresse oxidativo (SANTOS *et al.*, 2020) dentre outras.

2.6.1 Atividades biológicas dos metabólitos de algas marinhas

Os polissacarídeos de macroalgas marrons e vermelhas têm sido potencialmente usados como agentes terapêuticos naturais e alimentos funcionais (LIU *et al.*, 2018). Os polissacarídeos das algas marinhas também demonstraram funções anticoagulantes *in vitro*, e forte atividade inseticida contra o mosquito *Cx. quinquefasciatus* (VENKATESAN *et al.*, 2019). Polissacarídeos sulfatados isolados da alga *C. racemosa* desempenharam atividades antinociceptivas e anti-inflamatórias de forma dependente da ativação da via hemoxigenase-1 (RIBEIRO *et al.*, 2014). Os polissacarídeos da alga *Sargassum tenerrimum* como, fucoidan sulfatado e um alginato rico em ácido gulurônico mostraram atividade contra o vírus herpes simplex tipo 1 (SINHA *et al.*, 2010). Os polissacarídeos de algas marinhas são formadores de hidrogel com diversas aplicações biotecnológicas (BEAUMONT *et al.*, 2021; DHIVYA; PADMA; SANTHINI, 2015; KIM *et al.*, 2018).

O uso potencial de proteínas de algas é uma alternativa sustentável às proteínas de origem animal pois elas podem ser adicionadas a uma variedade de alimentos funcionais, fornecendo informações sobre o conteúdo nutricional em termos de proteínas, peptídeos bioativos, os alimentos à base de algas colocados no mercado global com selo verde (GEADA *et al.*, 2021; IJAOLA *et al.*, 2024). As lectinas de algas marinhas são ferramentas biotecnológicas muito promissoras que também ganham destaque quando aplicadas ao campo da farmacologia com propriedades anti-inflamatórias, controle do estresse oxidativo (FONTENELLE *et al.*, 2018b; MESQUITA *et al.*, 2021). Os aminoácidos semelhantes à micosporina se destacam principalmente devido à sua fotoproteção, propriedades antioxidantes e alta foto e termoestabilidade, que são características atrativas para o desenvolvimento de produtos cosmeceuticos (SCHNEIDER *et al.*, 2020; VEGA *et al.*, 2021).

Os ácidos graxos das algas marinhas são referenciados por bons índices nutricionais das frações lipídicas e seus produtos por apresentar grande potencial nutracêutico, promovendo benefícios à saúde e contribuindo para uma ingestão alimentar equilibrada de ácidos graxos (MARQUES *et al.*, 2023; ROCHA *et al.*, 2021). A alga *C. racemosa* é conhecida por seu alto valor nutricional, incluindo ácidos graxos poliinsaturados (PUFA) (AROYEHUN *et al.*, 2020; PERMATASARI *et al.*, 2021). Os esteróides de algas marinhas desempenham um papel importante na regulação do sistema reprodutor feminino (ARINI, 2021), também têm sido associados em atividade anticancerígena (ARSIANTI *et al.*, 2016).

Carotenóides como, zeaxantina (11), luteína (12), β -caroteno (13) e violaxantina (14) de macroalgas verdes e marrons são mencionadas por possuir atividade anticâncer e na degeneração macular relacionada à idade e cataratas; as algas vermelhas são relatadas por apresentarem uma vasta fonte de terpenóides estruturalmente diversos (FREITAS *et al.*, 2022;

RENGASAMY *et al.*, 2020). Os terpenóides de algas marinhas apresentam um amplo espectro de atividades antiproliferativas; antimicrobiano (PEREIRA *et al.*, 2011), efeito hepatoprotetor (JOUNG *et al.*, 2020), atividade antiviral (SOARES *et al.*, 2012).

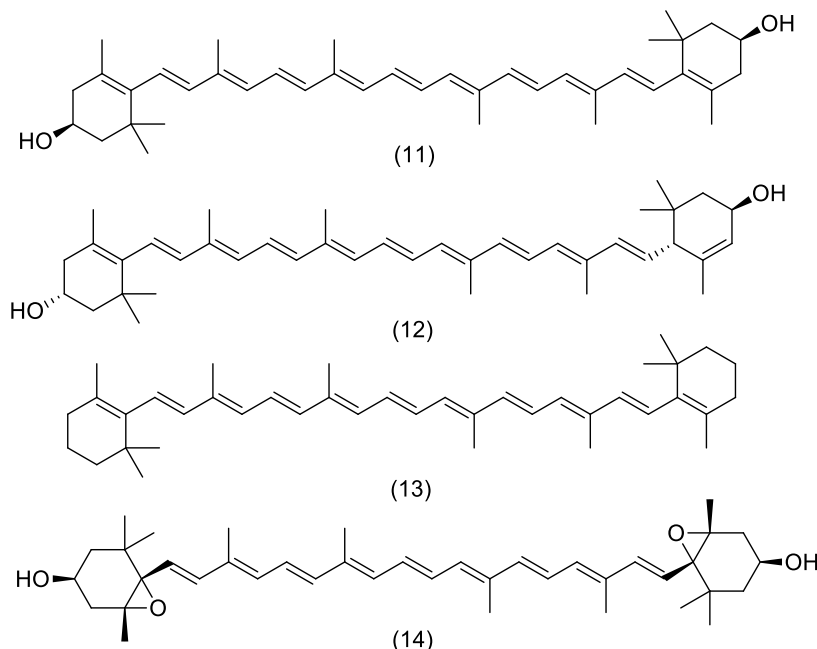


Figura 2-7: Estruturas dos carotenoides (11), luteína (12), β -caroteno (13) e violaxantina (14).

Alcaloides indólicos derivados de organismos marinhos demonstraram potencial para aplicações terapêuticas contra o câncer e parecem ser altamente eficazes no tratamento do câncer (ISLAM *et al.*, 2023). As algas do gênero *Caulerpa* foram isolados e identificados três alcaloides indólicos caulerpina (1), caulerpicina (2) e caulerpenina (3). O alcaloide caulerpina é reconhecido por sua capacidade de induzir um efeito levemente anestésico, dificuldades respiratórias, sedação e equilíbrio prejudicado, enquanto caulerpicina possui propriedades neurotróficas (KASE; CALUMPONG; RUPIDARA, 2020). Os alcaloides de algas marinhas são metabólitos secundário importante que têm atividade citotóxica que se deve à presença de agentes interferentes de microtúbulos que podem se ligar à beta-tubulina, inibindo assim a formação da fibra do fuso mitótico necessária para a divisão celular (LIU *et al.*, 2007; SOLANKI; KHANNA; LAL, 2008) além de atividade neuroprotetora (LIU *et al.*, 2013).

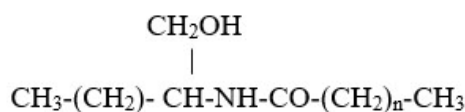


Figura 2-8: Estrutura da caulerpicina.

Os compostos fenólicos encontrados em algas são bastantes estudados por causa de sua capacidade antioxidante dos compostos solúveis em água, também a capacidade de se desenvolver em alimentos funcionais, nutracêuticos e fármacos (MACHU *et al.*, 2015). Compostos fenólicos como bromofenol e ácidos benzoicos são relatados por sua atividade antioxidante, bem como vários flavonoides, como kaempferol (15) e quercetina (16). Esta atividade antioxidante torna-se útil para superar o envelhecimento da pele fotoinduzido (KALASARIYA; PEREIRA, 2022).

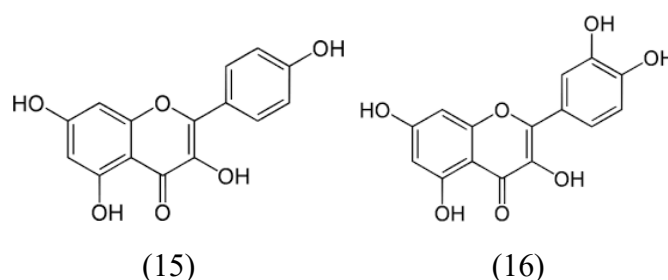


Figura 2-9: Estrutura da kaempferol (15) e quercetina (16).

Taninos, é um grupo químico que tem sido reportado com propriedades de efeitos bactericidas e inibidores de crescimento *in vitro* (WANG *et al.*, 2009) além de muitos medicamentos contendo tanino são usados no tratamento de hemorroidas, inflamações, queimaduras e como adstringentes (KOŁODZIEJ; KIDERLEN, 2005). Saponinas em extrato de algas têm sido reportadas por exibir atividades antioxidantes e atividade antibacteriana (KAILAS; NAIR, 2015; SRIDHAR; SARANRAJ, 2010).

A clorofila é um pigmento verde, que desempenha um papel fundamental na captura de energia da fonte de luz, na transferência de energia e na separação de cargas durante a fotossíntese. As clorofilas das algas têm atividade antioxidante e efeitos antimutagênicos (FREITAS *et al.*, 2022), além de potencial antiobesidade (LEE *et al.*, 2021). O feoforbídeo *a* tem uma atividade fotodinâmica devido à geração de espécies oxidativas reativas (ROS) sob luz. Esta característica está conectada à sua toxicidade, mas também pode ter um uso terapêutico ou biotecnológico (CHAN *et al.*, 2021; ČINČÁROVÁ *et al.*, 2021; TONG *et al.*, 2022).

2.6.2 Atividades biológicas específicas

Neste subtópico serão abordados estudos anteriores sobre as atividades inseticidas e cicatrizantes das algas marinhas bem como as principais atividades estudadas nas espécies *S. vulgare*, *A. triquetrum* e *C. racemosa*.

2.6.2.1 Atividade inseticida

Os produtos naturais marinhos possuem uma vantagem no desenvolvimento de inseticidas devido a sua singularidade estrutural. Isso porque muitos inseticidas comerciais são altamente eficazes por conterem íons haletos, sulfetos e nitretos quimicamente sintetizados em sua composição. Um grande número de produtos naturais marinhos contém esses íons, o que é raro em produtos naturais terrestres e ao mesmo tempo, como fontes naturais de produtos químicos, eles são mais competitivos em 'química verde' e na proteção ambiental (SONG *et al.*, 2021).

A ação larvicida de compostos isolados de extratos de algas marinhas contra espécies vetores de arboviroses como *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti*, *Culex quinquefasciatus* e outros, são reportados por demonstrar toxicidade contra larvas e serem a fonte alternativa prospectiva para controle do mosquito (ALARIF *et al.*, 2010; ALI; RAVIKUMAR; BEULA, 2013). O efeito da ação sinérgica de metabólitos do extrato bruto de algas demonstrou ser mais eficaz com ação larvicida do que em relação a componentes bioativos isolados por conter compostos biologicamente ativos, como clorofilas, fenóis, flavonoides, alcaloides, terpenóides e proteínas podem ser melhor agentes larvicidas (CAVALCANTI *et al.*, 2021).

Muitos dos inseticidas comerciais atuam na inibição de enzimas como acetilcolinesterase (AChE), em que o modo de ação está associada a capacidade de quebrar acetilcolina (ACh) durante a condução do impulso nervoso nos neurônios, servindo assim como o principal alvo para o desenvolvimento de novos inseticidas (KILIC *et al.*, 2021). Sabe-se também que a resistência metabólica devido à desintoxicação de enzimas está associada à resistência a inseticidas (LEONG *et al.*, 2019).

O *Aedes aegypti*, Linnaeus (1762), é considerado vetor primário das arboviroses responsável pela transmissão da febre amarela, dengue, chikungunya e zika que possui alto potencial de transmissão nos seres humanos devido aos seus hábitos antropofílicos e à reprodução em ambientes urbanos e peridomésticos, incluindo recipientes artificiais e naturais para oviposição (GÓMEZ *et al.*, 2022). No Brasil e em países da América do Sul e no Continente Africano as doenças negligenciadas (tropicais) causadas por mosquitos que estão entre os maiores problemas de saúde e representam um sério problema de saúde pública, onde a prevenção e o controle são difíceis, com o aumento do número de epidemias e coinfeções em diferentes áreas geográficas do país (CARVALHO *et al.*, 2016; OPAS/OMS, 2023).

Os componentes bioativos das algas têm sido investigados como alternativas aos pesticidas químicos cujos efeitos colaterais são negativos tanto nos seres humanos quanto no meio ambiente. A toxicidade das micro e macroalgas na forma de extratos com ação pesticidas agrícola é reportada por ser eficaz contra a sobrevivência e podem alternativas naturais promissoras em estratégias de manejo de pragas, além de limitar o uso intensivo de pesticidas químicos (RASHWAN; HAMMAD, 2020).

2.6.2.2 Atividade Cicatrizante

Moléculas bioativas dos organismos marinhos são uma fonte ideal para a exploração de novos materiais por exibirem uma variedade de mecanismos moleculares que representam um excelente potencial para aplicações médicas, farmacêuticas e biotecnológicas, mesmo na cicatrização de feridas e no desenvolvimento de andaimes de pele de engenharia de tecidos (CARVALHO *et al.*, 2022; XU *et al.*, 2021).

As pesquisas têm sido direcionadas na busca novos compostos bioativos de origem marinha com potencial antioxidante e capacidade de reparação tecidual (CHANDIKA; KO; JUNG, 2015; ELBIALY *et al.*, 2021; SENNI *et al.*, 2011; SEZER *et al.*, 2007). Isso devido à complexidade do processo de cicatrização que envolve a reparação e a regeneração do tecido ferido implica nas interações de célula-célula estáveis, bem como interações célula-matriz que concedem o processo em quatro fases sobrejacentes: formação de coágulos, inflamação, proliferação celular e remodelação (GANTWERKER; HOM, 2012; ROBSON, 2003).

O processo de cicatrização de feridas pode ser dificultado pela presença de radicais livres, que podem danificar as células circundantes da ferida. O local da ferida é rico em espécies reativas centradas em oxigênio e nitrogênio, juntamente com seus derivados que resultaria em estresse oxidativo levando a peroxidação lipídica, quebra de DNA e inativação de enzimas, incluindo enzimas sequestradoras de radicais livres (PANCHATCHARAM *et al.*, 2006). E o uso de antioxidantes de origem natural tem sido uma estratégia recente e eficaz para abordagens terapêuticas para tais distúrbios (BAHRAMSOLTANI; FARZAEI; RAHIMI, 2014).

Compostos derivados de algas marinhas que podem ter atividades biológicas promissoras em inúmeras aplicações terapêuticas mostraram resultados promissores em aplicações de cicatrização de feridas e regeneração de tecidos da pele. O uso de hidrogéis, como alginato extraído de algas marinhas têm demonstrado desempenho como componente de curativos de feridas, administração de medicamentos e engenharia de tecidos devido ao seu

baixo custo, biocompatibilidade desejável, alta higroscopicidade e propriedades de gel (RASTOGI; KANDASUBRAMANIAN, 2019; ZARE *et al.*, 2021).

As propriedades pró-cicatrizantes de feridas de extratos de algas marinhas, tais como *Sargassum filicifolium* e *Ulva lactuca* são reportadas por apresentarem notável atividade de proliferação celular e cicatrizantes feridas em camundongos a partir da administração oral (PREMARATHNA *et al.*, 2021).

2.6.2.3 Atividades das espécies *S. vulgare*, *A. triquetrum* e *C. racemosa*

A espécie *S. vulgare*, entre 2012 a 2022, foi relatada em diversas áreas de estudos, como medicina, biomédica e química, como fonte de produtos naturais, que apresenta atividades como, anti-inflamatória, antitrombótico, anticoagulante e antioxidante, (DORE *et al.*, 2013; KARKHANE *et al.*, 2020), antibactericida e antiparasitária (GHANIA *et al.*, 2019), antiincrustantes (PLOUGUERNÉ *et al.*, 2020), anticâncer e antiangiogênica (BHAYANI *et al.*, 2021; GUERRA DORE *et al.*, 2013), anti-Alzheimer (SHREADAH *et al.*, 2018) dentre outras, com potencial aplicações biotecnológicas.

A espécie *A. triquetrum* foi menos investigada nesse intervalo em comparação com *S. vulgare*, com menor número de publicação, no entanto, alguns trabalhos reportam que essa alga apresenta atividades biológicas relevantes distribuídas nas áreas da medicina e biotecnologia, com área de maior concentração na medicina tais como, atividade fotoprotetora (DAVID; BAHARULNIZAM; RAJABALAYA, 2022), anti-inflamatória (FONTENELLE *et al.*, 2018a), antiviral (CIRNE-SANTOS *et al.*, 2021; RONG *et al.*, 2019), antitumoral (GUERRA DORE *et al.*, 2013), cicatrizante (PINHEIRO, 2021), hepatoprotetora (VIDAL NOVOA, 2019), antioxidante (VIDAL *et al.*, 2006), o que a torna atrativa para um variedade de aplicações em áreas biomédica e farmacêutica.

A espécie *C. racemosa* também tem despertado grande interesse, se destacando por apresentar atividades biológicas como, antioxidantes e antibacterianas (BELKACEMI *et al.*, 2020), antiviral (ESTEVES *et al.*, 2019; KOISHI *et al.*, 2012), antidiabética (SHARIFUDDIN *et al.*, 2015), anti-inflamatória (RIBEIRO *et al.*, 2014; VAIRAPPAN *et al.*, 2013), antienvelhecimento (PERMATASARI *et al.*, 2021) (DEUDERO *et al.*, 2011) distribuídas em diversas áreas com maior concentração de publicação em farmacologia, bioquímica, agricultura e química.

Capítulo 3

Metodologia

3 METODOLOGIA

3.1 REAGENTES

Água destilada, Álcool Etílico Absoluto, Dinâmica; Temefós Fersol: Organofosforados, Cloreto de sódio e Ácido Clorídrico da Neon; Ácido 3,5-dinitrossalicílico (DNS) e Tampão Tris (Tris-HCl 0,1 M, pH 8,0 contendo CaCl_2 0,01 M e NaCl 0,15 M) da Dinâmica; Cloreto de cálcio, da Fmaia; Meio RPMI-1640 para cultura celular, Soro fetal bovino (SFB), Penicilina – Estreptomicina, MTT Formazan, PBS-Solução salina tamponada com fosfato, Tampão acetato (acetato de sódio 0,1 M, pH 5,5 contendo CaCl_2 0,01 M e NaCl 0,15 M), Tampão fosfato (fosfato de potássio 0,1 M, pH 7,5 contendo CaCl_2 0,01 M e NaCl 0,15 M) Monobásico e dibásico, Solução de amido, BApNA 8 mM (N-benzoil-DL-arginil-p-nitroanilida), Acetiltiocolina, Ácido 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzóico (DTNB) da Sigma-Aldrich.

3.2 LOCAL DE COLETA

Foram coletadas três amostras de macroalgas na praia de Enseada dos Corais, localizada no município de Cabo de Santo Agostinho ($8^{\circ}19'10.0''\text{S}$ $34^{\circ}56'55.9''\text{W}$) a 33 km de distância da capital Recife no Estado de Pernambuco, Brasil. A coleta foi realizada no período da manhã, durante a maré baixa, às 10:00 horas da manhã, no dia 17 de maio de 2022 em recife de arenito na região entremarés como mostra a imagem da região na figura 3-1.

O litoral de Pernambuco foi escolhido por possui uma extensa faixa de costa litorânea em torno de 190 km no nordeste brasileiro, com clima tropical úmido e temperaturas médias anuais entre 25°C e 30°C , sendo um ambiente favorável a uma grande biodiversidade de espécie algas marinhas (AMARAL *et al.*, 2016). O material botânico coletado foi armazenado em sacos de polietileno, codificados, mantidos refrigerados em recipiente para transporte até o laboratório, e em seguida lavado em água corrente, retirados epífitas e outros materiais, e lavado com água destilada.

O acesso das espécies *S. vulgare*, *A. triquetrum* e *C. racemosa* foram registrados (AC21C60, A6EC9D4 e A48D9A1) no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) e um exemplar comprovantes das respectivas algas (PEUFR 56168), (PEUFR 56170) e (PEUFR 56171) foram depositadas no Herbário Prof. Vasconcelos Sobrinho da Universidade Federal Rural de Pernambuco.



Figura 3-1: Imagem da localização da Praia de Enseada dos Corais e das macroalgas selecionadas: A – *S. vulgare*, B – *A. triquetrum* e C – *C. racemosa*. Fonte: autoria própria

3.3 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS

Inicialmente as macroalgas coletadas foram submetidas à secagem em estufa de circulação de ar na temperatura de 40°C por 36 horas. Em seguida, foram trituradas em triturador doméstico e a massa seca e em pó foi pesada. Para a extração dos metabólitos das algas, seguiu-se a metodologia de extração de (KUMAR *et al.*, 2020) com algumas adaptações. Os extratos aquoso, etanólico e hidroalcoólico foram obtidos a partir dos solventes água, etanol e a mistura de água e etanol na proporção 3:7. Usando a razão 1:10 da massa em pó da alga em relação ao solvente, a mistura foi submetida a extração em ultrassom (Elma®, easy 20H) por 30 minutos. Ao término de cada ciclo, o extrato foi filtrado e reservado e a biomassa filtrada foi submetida a nova extração por mais duas vezes.

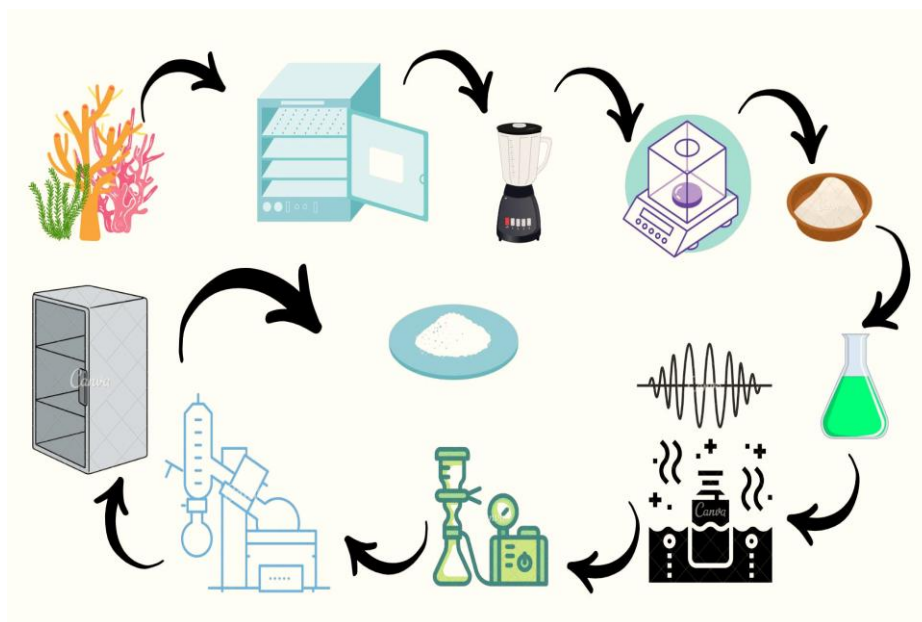


Figura 3-2: Esquema das etapas de extração

Os extratos etanólico e hidroalcoólico foram rotoevaporados em rotoevaporador (Buchi, switzerland® R-215), a 70 mbar em 40 °C. Os extratos das algas nos meios aquoso, hidroalcoólico e etanólico foram codificados conforme a tabela 3-1 e congeladas a -2 °C. Em seguida, as amostras foram liofilizadas em dispositivo L101®

Tabela 3-1: Códigos dos extratos das algas nos meios aquoso, hidroalcoólico e etanólico.

Espécie	Extrato	Códigos
<i>S. vulgare</i>	Etanólico	SE
	Hidroalcoólico	SH
	Aquoso	SA
<i>A. triquetrum</i>	Etanólico	AE
	Hidroalcoólico	AH
	Aquoso	AA
<i>C. racemosa</i>	Etanólico	CE
	Hidroalcoólico	CH
	Aquoso	CA

Essas etapas foram realizadas nos laboratórios BSTR-Malta no departamento de química fundamental-UFPE.

3.4 ANÁLISES DOS COMPOSTOS QUÍMICOS PRESENTES NOS EXTRATOS

3.4.1 Triagem fitoquímica preliminar

A triagem fitoquímica de diferentes extratos de algas foi avaliada para identificar os principais metabólitos secundários presentes nos extratos. Foram realizados dez testes colorimétricos tais como, alcaloides, terpenóides, esteroides, taninos, saponinas, flavonoides, fenóis, cumarinas, quinonas e glicosídeo nos extratos, como mostra a tabela 3-1 abaixo. A solução dos extratos foi a 1mg mL⁻¹ usando como solvente diluição os mesmos da extração. (DEYAB; ELKATONY; WARD, 2016).

Tabela 3-2: Ensaios colorimétricos para determinação qualitativa dos principais metabólitos presentes nos extratos.

Nº	Metabólitos	Reagentes adicionados	Cor esperada
1	Alcaloides	HCl + gotas de reag. de Mayer	verde ou ppt branco
2	Terpenóides	CH ₃ Cl + H ₂ SO ₄	Coloração marrom avermelhada na interface

3	Esteroides	$\text{CH}_3\text{Cl} + \text{H}_2\text{SO}_4$	Anel marrom avermelhada na interface
4	Taninos	5% FeCl_3	azul escuro ou cor preta esverdeada
5	Saponinas	água + agitação	Formação de espuma
6	Flavonoides	NaOH	Amarela
7	Fenóis	água + gotas de 10% FeCl_3	azul/verde
8	Cumarinas	NaOH	Amarela
9	Quinonas	H_2SO_4 conc	Vermelha
10	Glicosídeos	$\text{CH}_3\text{Cl} + \text{NH}_4^+ + \text{extrato}$	Rosa

Estes ensaios foram realizados no laboratório BSTR-Malta no departamento de química fundamental – UFPE.

3.4.2 Quantificação do teor de flavonoides totais

A quantificação do teor de flavonoides totais (TFT) foi baseada nos métodos de (MIGUEL *et al.*, 2014) partindo-se de 500 μL dos extratos a 1 mg mL^{-1} e da adição de 500 μL de cloreto de alumínio a 2%.

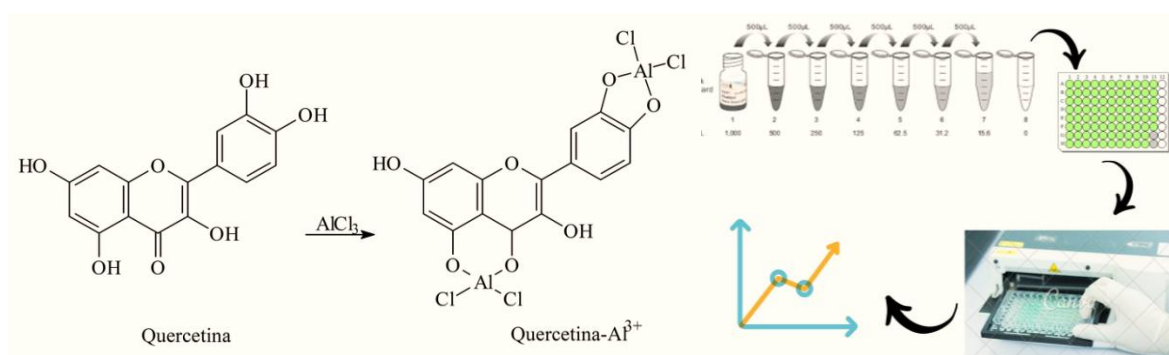


Figura 3-3: Etapas do Ensaio de determinação flavonoides totais

Após 1 h de incubação à temperatura ambiente e ao abrigo da luz, foram transferidos 200 μL da mistura reacional para microplacas de poliestireno de 96 poços e as absorbâncias foram lidas em 425 nm usando um espectrofotômetro de microplacas (Multiskan® SkyHigh).

A leitura dos brancos foi realizada com 500 µL de etanol a 95%, água e a mistura etanol e água na proporção 7:3. Todas as análises foram feitas em triplicatas e os resultados de TFT foram apresentados como média $\pm$ desvio padrão e expressos em miligramas de equivalentes de quercetina (mg EQ) por grama (g) do extrato. A curva do padrão quercetina no intervalo de concentrações de 62,5 a 1000 µg mL⁻¹ foi obtida a equação linear $y = 3,642x + 0,0221$, $R^2 = 0,9997$.

Este ensaio foi realizado nos laboratórios do BSTR no departamento de química fundamental-UFPE.

3.4.3 Análise dos espectros dos extratos no UV-vis

As absorbâncias dos extratos de algas foram medidas usando um espectrofotômetro UV-Visível (Agilent®, Cary 60 UV- Vis) com largura de banda espectral de 1,5 nm, comprimento de onda 190 - 1100 nm, lâmpada de flash de xenônio (80 Hz), sistema fotométrico viga dupla, em cubetas de quartzo quadradas com duas faces polidas. Para isso, os extratos de algas marinhas foram diluídos a 1000 µg mL⁻¹ na proporção 1:3 em relação ao solvente de extração usando a janela espectral de 200 a 700 nm com leituras a cada 1 nm.

Os resultados foram apresentados em espectros de absorbância versus o comprimento de onda (nm) em que foram selecionadas oito zonas ou bandas designadas como Zona A (240-249 nm), Zona B (250-280 nm), Zona C (305-347 nm) e Zona D (358- 377 nm) para as supostas substâncias bioativas. E zona E (400-425 nm), Zona F (440-455 nm), Zona G (456-480 nm) e Zona H (650 - 670nm) para os compostos fotossinteticamente ativa adaptada do estudo de (SCHMITZ, 2017; SCHMITZ *et al.*, 2018).

Essa análise foi realizada no Laboratório BSTR - Lumis no departamento de Química Fundamental da UFPE.

3.4.4 Análise de Infravermelho (FTIR)

A espectroscopia de Infravermelho foi realizada para elucidar os principais estiramentos vibracionais das ligações dos metabólitos presentes nos extratos. As análises foram realizadas usando pastilhas de KBr (na região de 4000 a 400 cm⁻¹) em espectrômetro (PerkinElmer® Spectrum Version), um total de 96 varreduras e resolução de 4 cm⁻¹ onde foram utilizadas para

obter uma boa relação sinal-ruído. Esta análise foi realizada na Central Analítica do departamento de Química da Universidade Federal do Pernambuco - UFPE.

3.4.5 Análise de Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massas de alta resolução (LCMS)

As amostras foram analisadas utilizando um HPLC que consistia em um sistema Nexera 2 equipado com um detector de arranjo de fotodiodos (SPD-M20A), um controlador de sistema (CBM-20A), duas bombas binárias (LC-20 AD), um desgaseificador online (DGU -20A3), um amostrador automático (SIL-20AHT) e um forno de coluna (CTO-20A). Os dados foram processados pelo software LC Solution 1.0 (todos da Shimadzu, Kyoto, Japão). O método utilizou uma fase estacionária C18, Agilent, dimensões 250 x 4,6 mm e partículas de 5 µm. A fase móvel foi uma mistura de solvente A: tampão formiato de amônio, 10 mM, pH 5 e solvente B: metanol/água (90:10, v/v) em gradiente exploratório variando a proporção de solvente em 25 min para 10:90 (v/v) e 100:0 (v/v) em 30 min, de A e B respectivamente. A vazão foi ajustada em 0,8 mL. min⁻¹ em modo de eluição gradiente, o volume de injeção foi de 10 µL, a temperatura do amostrador automático foi de 5°C e a temperatura do forno da coluna foi mantida em 40 °C. A análise foi registrada na faixa de absorvância de 190–400 nm. O HPLC foi acoplado a um espectrômetro de massas híbrido quadrupolo (MS/Q-TOF), equipado com uma fonte ESI operando em modo positivo (ESI+), da Bruker Daltonics®, modelo Impact II (Billerica, EUA). Os espectros foram obtidos na faixa de 50–1000 m/z, tensão capilar foi ajustada para 3,5 kV; o nitrogênio foi usado como gás de colisão a 3 L.min⁻¹, com energia de colisão de 35 eV; e a temperatura da fonte foi ajustada para 150 °C. Antes da análise de cada amostra, o equipamento foi calibrado com trifluoroacetato de sódio (200 µL min⁻¹). A aquisição de dados foi realizada sob o controle do software Com-pass HyStar e os dados foram processados pelo pacote Data Analysis versão 3.0 (ambos da Bruker Daltonics, Billerica, MA, EUA).

Esta análise foi realizada Centro de Análise de Medicamentos, Medicamentos e Alimentos (CAFMA) da Universidade Federal do Vale do São Francisco e Departamento de Ciências Farmacêuticas – UFPE.

3.5 ANÁLISE DE CITOTOXICIDADE

3.5.1 Cultura Celular

Neste teste foram utilizadas células epiteliais de rim de macaco (VERO) para realização do ensaio de citotoxicidade. As células foram cultivadas em meio RPMI-1640 (Sigma-Aldrich) suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB) da Sigma-Aldrich e 1% de penicilina/estreptomicina, mantidas em estufa a 37 °C e 5 % de CO₂.

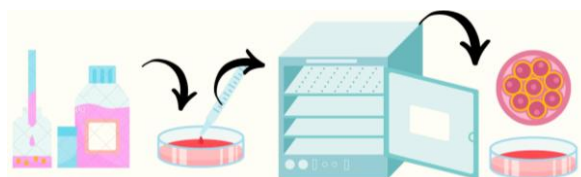


Figura 3-4: Esquema da etapa na Cultura de célula.

3.5.2 Ensaios de Citotoxicidade

Para realização dos ensaios foram obtidas suspensões celulares semeadas em placa de 96 poços (1×10^4 células/poço) e tratadas com diferentes concentrações dos extratos (3.0, 6.0, 12.0, 25.0, 50.0 e 100.0 µg / mL) por 24 horas. Após a incubação com o tratamento, 20 µL de MTT (brometo de 3- (4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-difen-niltetrazólio) diluído em PBS foi adicionado a cada poço e incubado por 3 horas em estufa a 37 °C e 5 % de CO₂. Em seguida, foi adicionado 100 µL do diluente para solubilizar os cristais de formazan formados. A absorbância de cada poço foi medida a 570 nm usando um espectrofotômetro de microplacas (Multiskan[®] SkyHigh).

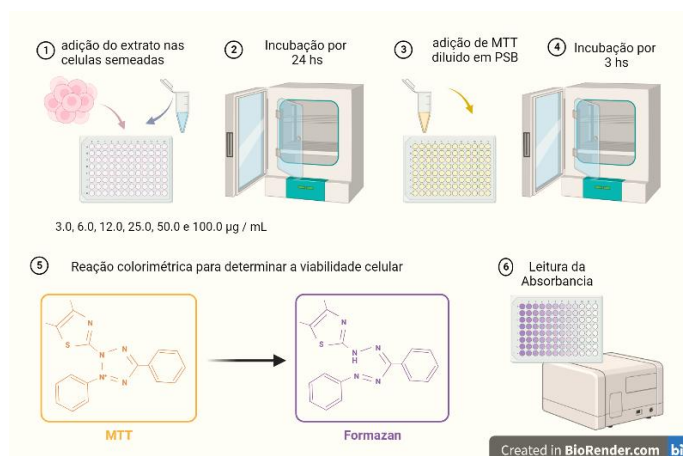


Figura 3-5: Esquema das etapas do ensaio de citotoxicidade *in vitro*

A viabilidade celular foi expressa em porcentagem, em função das concentrações dos extratos, sendo a linhagem celular (controle não tratada com os extratos) considerada como 100% de viabilidade (FRESHNEY, 2005). Todos os ensaios foram realizados em triplicata e os dados obtidos foram tratados com teste estatístico ANOVA de uma via para comparação entre os grupos e as diferenças avaliadas pelo pós-teste de one way ($P < 0,05$). Os gráficos e as análises estatísticas foram realizados utilizando o software GraphPad Prisma, versão 5.0.

Essa análise foi realizada no Laboratório BSTR - Prometeu no departamento de Química Fundamental da UFPE.

3.5.3 Ensaio de migração celular dos extratos SA, SH, AH e AE

O efeito indutor de crescimento celular dos extratos SA, SH, AH e AE foi avaliado no ensaio de ranhura seguindo a metodologia da literatura de (ALMEIDA *et al.*, 2020). Os fibroblastos foram cultivados em uma placa de 24 poços em meio RPMI -1640 contendo 10% de FBS durante a noite. Para observar o efeito dos extratos na migração de fibroblastos, um grupo de células foram tratadas apenas com meio (grupo controle) e outro com os extratos nas concentrações de 50 e 100 $\mu\text{g. mL}^{-1}$. Portanto, a monocamada de células confluentes foi arranhada com uma pipeta contendo uma ponteira estéril de 20 μL . Em seguida a área da ranhura foi fotografada utilizando um microscópio invertido (Bel Photonics inv[®] 100) antes da adição dos extratos (tempo 0), bem como após 24 horas do tratamento. Para maior controle da região fotografada foram feitos pontos de referência desenhando uma linha reta, com uma caneta marcadora de ponta ultrafina, no fundo externo dos poços da placa. A marca de referência foi colocada fora do campo de imagem de captura, mas dentro do campo de visão do microscópio. Duas áreas da fenda, acima e abaixo da linha guia, foram medidas em cada poço em 0 e 24 horas de tratamento utilizando o software *Image J*, o software foi utilizado para detectar automaticamente a posição da extremidade da borda (FERREIRA; RASBAND, 2012). O fechamento da ranhura (%) foi quantificado utilizando a mudança percentual na área de medição normalizada dividida pela área aberta original de acordo com a expressão:

$$\% \text{ fechamento da ranhura} = \left[\frac{A(0) - A(t)}{A(0)} \right] \times 100 \quad (\text{Equação 2})$$

onde a área no tempo zero (0) e a área após o tempo de incubação (t) foram utilizadas para calcular a porcentagem de fechamento da ranhura.

Os resultados foram expressos como porcentagem do fechamento da ferida, considerando a área medida no tempo zero como 0%. As comparações entre os tratamentos foram realizadas utilizando o teste de análise de variância (ANOVA) seguido de comparação múltipla do teste de Dunnett (foram avaliados três conjuntos de dados), utilizando células não tratadas como controle. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão (DP) e o valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo. Os gráficos e as análises estatísticas foram realizados utilizando o software GraphPad Prisma, versão 5.0.

3.6 PREPARO DE FILME POR ELETROFIAÇÃO

Neste subtópico, são abordadas as etapas de preparação do filme contendo o extrato com efeito proliferativo e migratória celular. Para isso, a solução do extrato de alga foi preparada usando 1,5% do extrato bruto em relação ao polímero, diluído em diclorometano com auxílio de sonificador e em seguida foi adicionada 1g do polímero policaprolactona (PCL) empregando agitador magnética em temperatura ambiente por 30 minutos. Após preparo da solução polimérica contendo o extrato, a eletrofiação foi realizada em Impressora (Cliever CL1 Black Edition[®]) e processado conforme o esquema da figura 3-10. Os parâmetros do processo foram os seguintes: seringa com agulha metálica de corte ortogonal de calibre 0,7, preenchida com solução contendo o polímero e o extrato; taxa de ejeção igual a 1,7 m. h⁻¹; voltagem aplicada de 3,91 kV; distância entre a agulha e o coletor de 56,8 mm; temperatura ambiente (25-28 °C). Os filmes foram coletados em um disco coletor rotativo plano coberto com folha de alumínio. O aparelho permaneceu ligado e ejetou as nanofibras até que todo o conteúdo da seringa fosse esgotado.

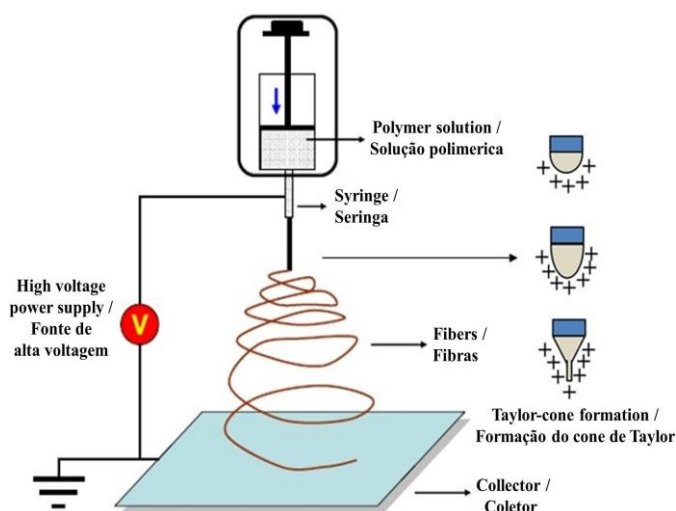


Figura 3-6: Esquema de representação do processo de eletrofiação. Fonte: Extraído de (BATISTA et al., 2020)

3.7 ATIVIDADE LARVICIDA

Os bioensaios foram realizados utilizando larvas de *Ae. aegypti*, do terceiro instar selecionadas uniformemente, oriundas de uma colônia previamente estabelecida no Laboratório de Pesquisa de Toxicologia do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Os experimentos foram conduzidos de acordo com a Organização Mundial da Saúde (WALDETENSAI, 2017; WHO, 2005) em sala climatizada com temperatura média de 27 °C, umidade média de 70% e fotoperíodo de 12 horas (CRUZ *et al.*, 2020).

Inicialmente foram realizados pré-testes com os extratos das macroalgas estudadas em intervalos de concentrações de (12,0; 7,0 e 3,5 mg mL⁻¹) para a alga marrom, (7,0; 3,5 e 1,75 mg mL⁻¹) para a alga vermelha e (2,0; 1,0 e 0,5 mg mL⁻¹) para a alga verde. Utilizando a proporção de 1 mL de extrato por larvas em instar 3, foi avaliado o tempo do indumento da toxicidade nos intervalos de 30 min, 1, 2, 4, 8, 16, 24 e 48 horas. Após a finalização do pré-teste foram selecionados quais extratos apresentaram potencial larvicida com base na taxa de mortalidade a partir de 50% de morte larval. Todos os pré-testes foram realizados em triplicatas e em dias distintos.

Para os ensaios inseticidas foram feitas soluções estoques de 10 mg mL⁻¹ dos extratos SE de *S. vulgare* e AE e AH da alga *A. triquetrum* e a partir desta foram realizadas diluições para obter as concentrações (8,0; 7,0; 6,0; 5,0; 4,0 e 3,0 mg mL⁻¹). O mesmo procedimento foi realizado para obter as concentrações de 3,0; 2,5; 2,0; 1,5; 1,0 e 0,5 mg mL⁻¹ do extrato CH da alga *C. racemosa* partindo-se da solução estoque a 3,5 mg mL⁻¹.

Foram utilizadas 20 larvas por repetição, sendo 60 larvas por concentração de extrato, um total de 720 larvas no pré-teste e no bioensaio inseticida com as amostras aprovadas foram usadas 2160 larvas, incluindo os grupos de controles. Foram utilizados como controle negativo água destilada e controle positivo temefós® fersol na concentração de 1 µg mL⁻¹. As larvas foram coletadas com o auxílio de pipeta de Pasteur, coadas e postas em recipientes semi-acrílico (6,5 cm de altura x 5,0 cm de largura) contendo em cada recipiente 20 mL da amostra. Estes bioensaios larvicidas foram realizados em datas diferentes e em três dias consecutivos para cada extrato.

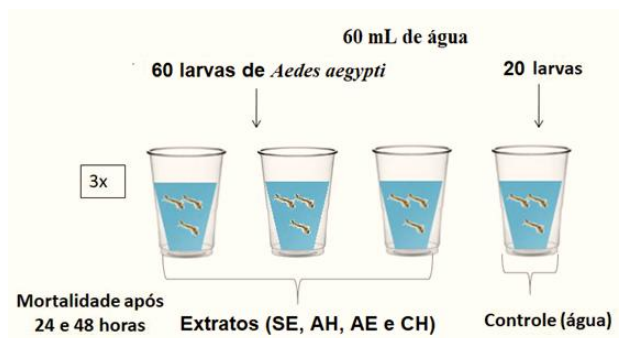


Figura 3-7: Esquema do Bioensaio larvicida

A análise estatística foi obtida a partir dos percentuais de mortalidade larval derivados dos ensaios larvicidas foram submetidos ao teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. A análise de regressão Probit foi usada para determinar os valores das concentrações letais (LC_{50} e LC_{90}), para isso foi utilizado o software POLO-PC (Probit for Logit Analysis). O intervalo de confiança de 95% foi usado para comparar as LCs.

Esta análise foi realizada no Laboratório de Toxicologia no Departamento de Antibióticos – UFPE.

3.8 ANÁLISE MORFOLÓGICA DAS LARVAS

Após o término do bioensaio larvicida, os efeitos do induzimento tóxicos dos extratos foram investigados nos tecidos das larvas para avaliar quais os danos que os fitoquímicos poderiam ter provocado na morfologia externa. E por meio da comparação das imagens micrográficas das larvas tratadas com os extratos e as dos grupos controle foram observados os segmentos seguindo a metodologia adaptada de Suganya et al., (2019). As larvas foram fixadas em lâminas e fotografadas utilizando o estereomicroscópio Motic® SMZ-160 que forneceu uma taxa de zoom em escala microscópica de luz de campo em torno de 20× o tamanho. Também foram feitas imagens em microscópio binocular acromático Olen® K55-BA com taxa de zoom em escala microscópio de 10 x dos segmentos da cabeça, tórax, abdome, brânquias anais e sifão, seguindo a metodologia adaptada de (SUGANYA *et al.*, 2019).

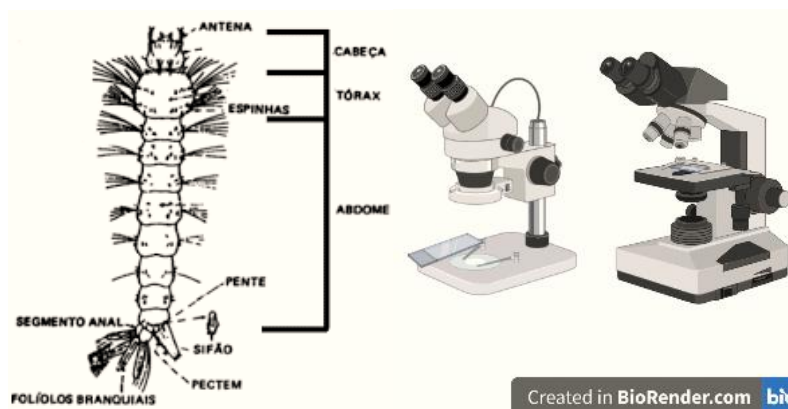


Figura 3-8: Esquema da análise da morfologia externa das larvas.

Essa análise foi realizada no Laboratório BSTR no departamento de Química Fundamental da UFPE.

3.9 ENSAIOS ENZIMÁTICOS

A fim de compreender o mecanismo de ação dos extratos das algas que apresentaram potencial larvicida sobre *Ae. aegypti*, as atividades da amilase, tripsina e acetilcolinesterase (AChE) foram determinadas pelo método espectrofotométrico seguindo as metodologias de Bernfeld (1955), Kakade et al. (1969) e Ellman et al. (1961), respectivamente. Para a realização dos ensaios enzimáticos, um grupo de 50 larvas (L3) vivas foram coletadas após 16 horas de exposição nos extratos SA, CH, AE e AH e imobilizadas por resfriamento por 10 minutos a - 4 °C. Em seguida, as larvas foram homogeneizadas em 1 mL de tampão acetato (acetato de sódio 0,1 M, pH 5,5 contendo CaCl_2 0,01 M e NaCl 0,15 M), tampão Tris (Tris-HCl 0,1 M, pH 8,0 contendo CaCl_2 0,01 M e NaCl 0,15 M) ou tampão fosfato (fosfato de potássio 0,1 M, pH 7,5 contendo CaCl_2 0,01 M e NaCl 0,15 M) utilizando um homogeneizador de tecidos de 2 mL. Em seguida foram centrifugados por 15 min a 9.000 x g, os sobrenadantes (extrato com as enzimas) foram coletados e analisados quanto às concentrações de proteína (BERNFELD, 1955; ELLMAN *et al.*, 1961; KAKADE; SIMONS; LIENER, 1969; LOWRY *et al.*, 1951).

3.9.1 Atividade da Amilase

A atividade da enzima tripsina foi observada pela incubação de 50 μL do extrato das enzimas em tampão acetato (1,65 mg mL^{-1} de proteína) com 400 μL de solução de amido

solúvel a 1 % (p/v) e 50 µL dos extratos nas concentrações de 2,0; 1,5, 1,0 e 0,5 mg mL⁻¹ a 50 °C por 10 min. Em seguida, a reação foi interrompida pela adição de 500 µL de ácido 3,5-dinitrossalicílico (DNS). Os ensaios foram aquecidos a 100°C por 6 min, resfriados em gelo por 15 min e a absorbância foi medida a 540 nm. A quantidade de açúcares redutores foi determinada utilizando uma curva padrão com diferentes concentrações de glicose com DNS ($Y = 0,1261 X - 0,0157$, onde Y é a absorbância a 540 nm e X é a concentração de glicose em mg mL⁻¹). Uma unidade enzimática foi definida como a quantidade de enzima necessária para produzir 1 µmol de glicose min⁻¹ (BERNFELD, 1955).

3.9.2 Atividade da Tripsina

A atividade da enzima tripsina foi verificada pela incubação de 75 µL extrato das enzimas em tampão tris (26,2 mg mL⁻¹ de proteína) com 15 µL de BApNA 8 mM (N-benzoil-DL-arginil-p-nitroanilida) e 75 µL dos extratos nas concentrações de 2,0; 1,5; 1,0 e 0,5 mg mL⁻¹ em Tris 0,1 M (60 min, 37 °C). A atividade da enzima tripsina foi observada a 405 nm. Uma unidade de atividade enzimática foi definida como a quantidade de enzimas necessárias para hidrolisa 1 µmol de BApNA por minuto. A hidrólise do substrato foi controlada pela incubação do extrato das enzimas intestinais em tampão tris (5 µg) apenas com BApNA 8 mM (15 µl) (60 min, 37 °C) (KAKADE; SIMONS; LIENER, 1969).

3.9.3 Atividade da AChE

A atividade da AChE foi determinada pela incubação de 15 µL do extrato das enzimas em tampão fosfato com 20 µL de acetilcolina 0,075 M, 200 µL de ácido 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzóico (DTNB) a 0,01 M e 15 µL dos extratos nas concentrações de 2,0; 1,5; 1,0 e 0,5 mg mL⁻¹ por 3 min a 25 °C. Em seguida, a quantidade de acetilcolina foi observada medindo a absorbância em 405 nm. Uma unidade de atividade da AChE foi definida como a quantidade necessária para hidrolisar 1 µmol min⁻¹ de acetiltiocolina (ELLMAN *et al.*, 1961).

Esta análise foi realizada no Laboratório de Bioquímica de Proteínas – BIOPROT, Departamento de Bioquímica – UFPE.

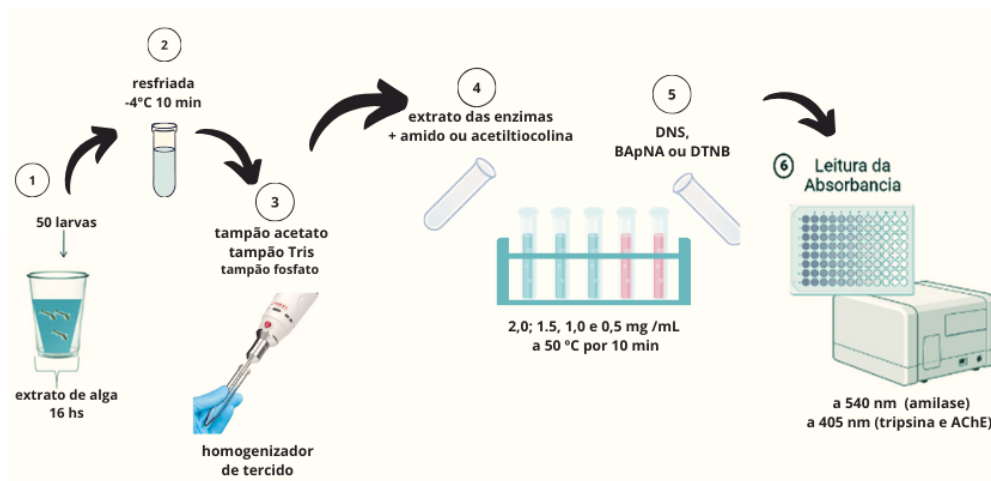


Figura 3-9: Esquema das etapas do Ensaio Enzimático.

3.10 ENCAPSULAMENTO DO EXTRATO

Neste subtópico são abordadas metodologias de testes que estão com perspectivas futuras de ajuste. Os extratos de algas com atividade inseticida possuem compostos ativos voláteis e, portanto, sua atividade é limitada por um período de tempo e o encapsulamento possibilita o aumento da estabilidade (fotossensibilidade) e a longevidade (liberação lenta) das substâncias ativas. Para isso, foram preparadas cápsulas contendo o extrato a base alginato de sódio.

Foram preparadas hidrogéis de alginato de sódio nas proporções (1, 2, 3 e 4 % m/v), dissolvendo em 5mL em água destilada sob em agitação magnética e aquecimento em 40°C até a solubilização total do polímero. Em seguida, os geis de alginato foram mantidos resfriados por 24 horas a 4°C por 24 horas. Como solução de reticulação foi usado o cloreto de cálcio preparadas em diferentes concentrações (0.5, 1.0, 2.0 e 2.5% m/v).

3.10.1 Produção das cápsulas

Foi adicionado 58,2 mg do extrato liofilizado em 5 mL das soluções de alginato de sódio utilizando alternadamente a agitação magnética e ultrasonificação em temperatura controlada a 40°C para obter a solubilização total do extrato na solução polimérica. A massa do extrato encapsulada foi obtida a partir do cálculo teórico:

$$M_{(cap)} = LC_{90} \times V_{(sis)} \quad (\text{Equação 3})$$

onde $M_{(cap)}$ é massa da cápsula, LC_{90} é a concentração da letal de 90% de morte larval em 24 horas e V é o volume do sistema (meio) de liberação da cápsula em 20 mL.

Em seguida, foi retirada uma alíquota de 1 mL do hidrogel de alginato com extrato foi transferido para um recipiente flexível de polietileno e congelada a -2°C por 16 horas. Usando a técnica Ice-templated, que consiste nos processos moldados em gelo, o molde congelado foi transferido para a solução de CaCl_2 por 20 minutos. Após o processo de reticulação, a capsula foi lavada com água destilada e avaliada a estabilidade de manuseio.

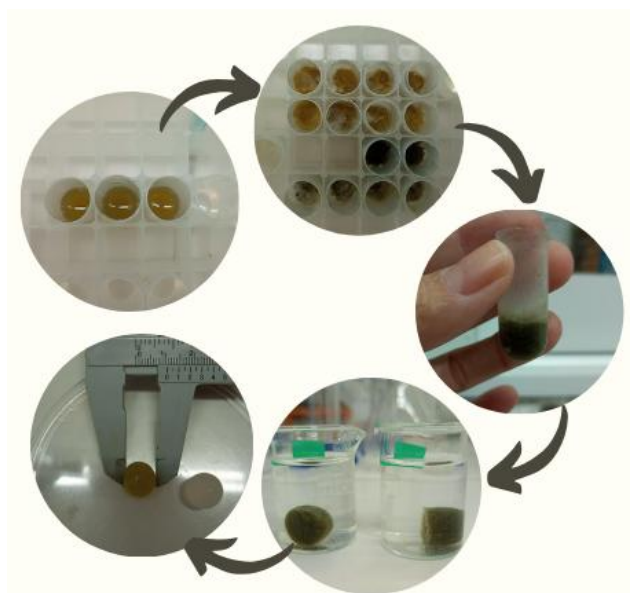


Figura 3-10: Esquema das etapas de encapsulamento do extrato

3.10.2 Ensaio de liberação

A cápsula foi transferida para um béquer contendo 20 mL de água destilada e a liberação do extrato encapsulado foi acompanhada pela medida da absorbância em 409 nm no UV-vis (banda associada a clorofilas) nos intervalos de 30 minutos, 1, 2, 4, 8, 16, 24, 36 e 48 horas. A quantificação da concentração do extrato foi realizada pela construção da curva de calibração, usando as concentrações do extrato de 3,0; 5,0; 3,0; 2,5; 2,0; 1,5; 1,0; 0,5; 0,25; 0,13 e 0,06 mg mL^{-1} , onde se obteve a equação da reta igual a $y = 0.13952x + 0.00141$ com $R^2 = 0.99143$.

A porcentagem de liberação cumulativa (LC) de compostos clorofilados encapsulados foi calculada usando a Equação:

$$\%LC = \sum_{t=0}^t \frac{Ct}{C_0} \times 100 \text{ (Equação 4)}$$

onde C_T é a quantidade de compostos clorofilados liberados no tempo t e C_0 é a quantidade total de compostos clorofilados na capsula.

Capítulo 4

Resultados e Discussão

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ANÁLISES DOS COMPOSTOS QUÍMICOS DOS EXTRATOS

Nesta subseção são abordados os resultados da análise química dos extratos como ensaios preliminares colorimétricos qualitativo e quantitativo; técnicas espectrométricas de UV-vis, infravermelho – FTIR e cromatográfica líquida acoplada a espectrometria de massa de alta resolução (LC-MS) (subseção 4.1.5). A presença dos compostos foi sugerida com base na comparação das razões massa/carga dos íons.

4.1.1 Análise qualitativa dos fitoquímicos

Na tabela 4-1 estão apresentados os resultados da análise fitoquímica preliminar de dez metabólitos secundários investigados nos extratos aquosos, hidroalcoólicos e etanólicos das algas.

Tabela 4-1: Análises qualitativas de substâncias fitoquímicas em diferentes extratos de *S. vulgare*, *A. triquetrum* e *C. racemosa*.

	Metabólitos	SA	SE	SH	AA	AE	AH	CA	CE	CH
1	Alcaloides	++	++	-	++	+	+	-	++	+
2	Terpenóides	-	-	++	-	-	-	++	-	++
3	Esteroides	-	+	++	-	-	-	++	+	++
4	Taninos	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	Saponinas	-	*	+	-	+	++	-	++	+
6	Flavonoides	-	-	*	-	-	-	-	-	-
7	Fenóis	-	-	-	-	+	-	-	+	-
8	Cumarinas	*	+	*	*	-	-	-	-	-
9	Quinonas	-	-	+	-	-	-	++	+	*
10	Glicosídeos	-	-	+	-	-	-	-	-	-

+: presente; ++: presente com intensidade; -:ausente; * talvez

Para a alga *S. vulgare*, 07 metabólitos testaram positivos SH, 04 no extrato SE e 02 no extrato SA. Em todos os extratos dessa espécie de macroalga testaram ausentes para fenóis e taninos. cumarinas testaram presentes apenas para SE e glicosídeos para SH.

Os extratos de *A. triquetrum* apresentou poucos metabólitos, sendo 03 para o AE e 02 para os AA e AH, confirmando presentes alcaloides e saponinas. Os extratos de *C. racemosa* testaram positivos para 05 metabólitos no extrato CE, 04 para CH e 03 para CA, como, alcaloides, terpenoides, esteroides, saponinas, fenóis e quinonas.

Embora este teste não identifique especificamente o tipo de composto dentro de cada classe de metabólito, ele pode fornecer uma base geral dos grupos de metabolitos podem estar presentes, no entanto, por ser um teste qualitativo são necessárias outras análises quantitativas mais específicas para identificar a composição química.

4.1.2 Análise de Flavonoides totais

Os resultados da quantificação de flavonoides totais nos extratos das algas estudadas, estão expostos na tabela 4-2, por meio de ensaio espectrofotométrico baseado na formação de complexos de alumínio.

Tabela 4-2: Quantificação de Flavonoides total

Amostras	C (mg. mL ⁻¹)
SA	0,044 ± 0,019
SH	0,043 ± 0,020
SE	0,148 ± 0,021
AA	0,038 ± 0,021
AH	0,108 ± 0,027
AE	0,074 ± 0,015
CA	0,079 ± 0,017
CH	0,396 ± 0,049
CE	0,660 ± 0,017

De um modo geral, as concentrações de flavonoides totais foram muito baixa para todas as espécies. Os extratos com maiores concentrações foram o SE da alga marrom, com 0,148 ±

0,021 mg mL⁻¹, o AH da alga vermelha com $0,108 \pm 0,027$ mg mL⁻¹ e CE com $0,660 \pm 0,017$ mg mL⁻¹ da alga verde.

Os dados dos erros do desvio padrão sugerem que as concentrações de flavonoides totais encontradas podem estar em uma faixa de concentração abaixo da detecção do aparelho leitor das absorbâncias.

4.1.3 Análise de espectroscopia dos extratos no UV-vis

A análise dos espectros dos extratos no UV-vis por ser uma técnica semiquantitativa pode fornecer quais principais bandas de absorção de grupos cromóforos estão presentes. A Figura 4-1 estão apresentados os perfis de absorção dos espectros UV-Vis dos extratos aquosos, hidroalcoólicos e etanólicos das algas *S. vulgare*, *A. triquetrum* e *C. racemosa*, destacando oito zonas principais de absorbâncias das supostas substâncias bioativas.

As zonas designadas como A (240-249 nm), B (250-280 nm), C (305-347 nm) e D (358-377 nm) são regiões indicativas presença de florotaninos, aminoácidos, cumarina e outros compostos fenólicos, baseadas em estudos anteriores (KORBEE; FIGUEROA; AGUILERA, 2006; PÉREZ-RODRÍGUEZ; AGUILERA; FIGUEROA, 2003; SCHNEIDER *et al.*, 2020). E as zonas de compostos fotossinteticamente ativos foram lidas nos intervalos dos espectros: Zona E (400-425 nm), Zona F (440-455 nm), Zona G (456-480 nm) e Zona H (650-670nm), estudadas anteriormente (SCHMITZ *et al.*, 2018).

Os espectros de UV da alga *S. vulgare* a presença na zona B (270 – 285 nm) com absorbância máxima em 274 nm é observada nos extratos SA e SE. Os espectros de UV da alga *A. triquetrum* nenhuma banda se destacou nessa região, no entanto, os espectros de UV da alga *C. racemosa* bandas em 263 nm e 270 nm são observadas nos extratos CA, CH e CE. Em estudos anteriores a presença de bandas B, em algas marrom na costa brasileira, neste mesmo intervalo do espectro de UV, foram associados a presença de compostos químicos com efeito fotoprotetor, como florotaninos e outros compostos fenólicos (SCHMITZ *et al.*, 2018). Thambidurai (2011), avaliando essa região do espectro UV observou a presença de bandas largas entre 230 e 270 nm, denominando-as de bandas B ou bandas benzenóides, devido ser uma região de absorção de moléculas aromáticas (THAMBIDURAI, 2011).

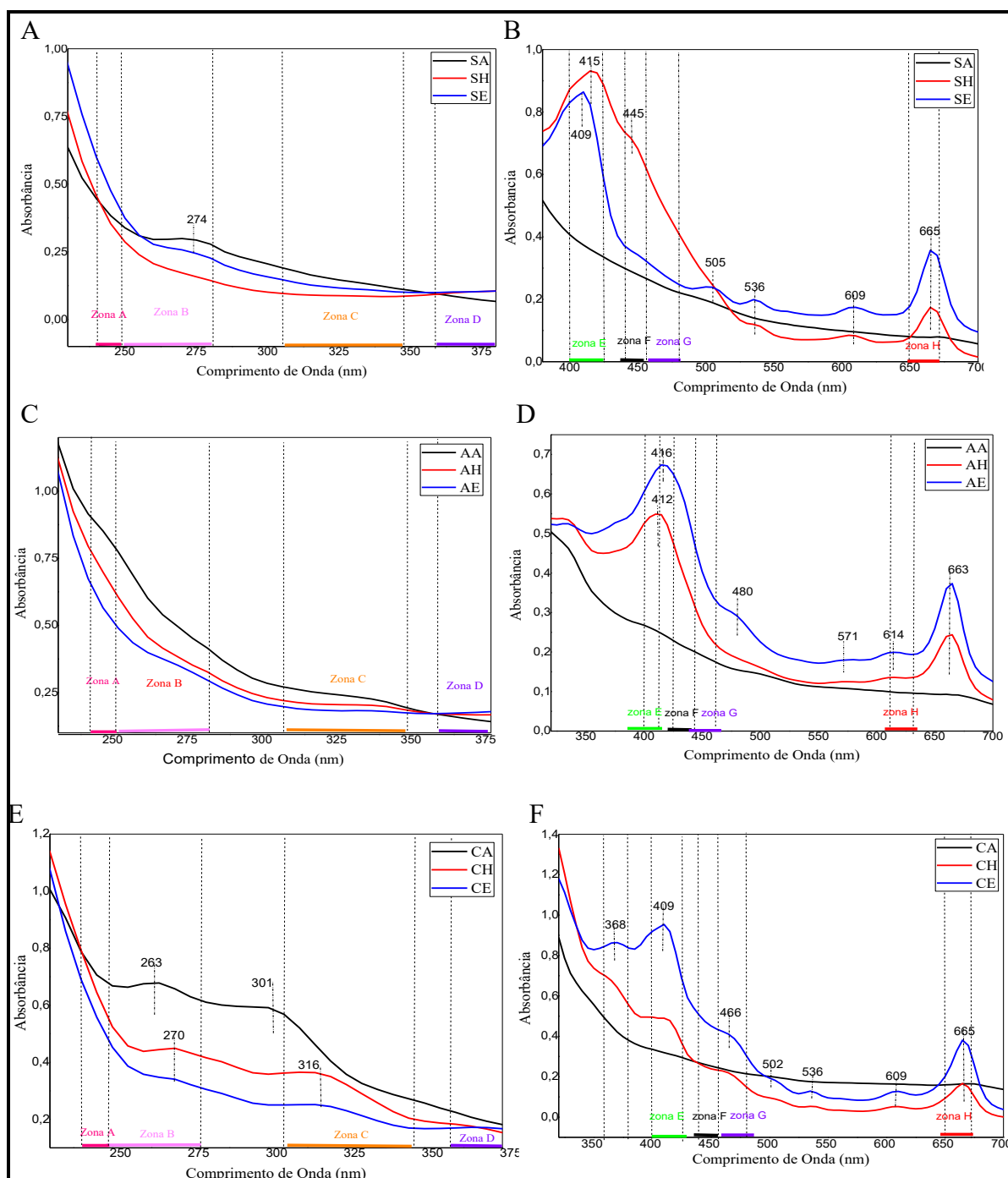


Figura 4-1: Análise de UV-vis dos extratos das algas *S. vulgare* (A e B), *A. triquetrum* (C e D) e *C. racemosa* (E e F).

Correlacionando esses estudos com os resultados encontrado nos espectros de UV dos extratos das algas investigadas, estes sugerem que as algas *S. vulgare* e *C. racemosa* apresentam bandas B que confirmam a presença de compostos fenólicos, no entanto, análises mais específicas são necessárias para identificação desses metabólitos. Outras zonas dos espectros

no UV, são observadas a presença de uma banda em 301 nm no CA e em 316 nm nos extratos CH e CE da alga verde, correspondem a absorbância na Zona C (305-347 nm) que foi caracterizada como região de atividade de aminoácidos do tipo micosporina (SCHMITZ, 2017).

Observando os espectros na faixa do visível, bandas em 415 e 445 nm estão presentes no extrato SH e em 409 nm no extrato SE da alga marrom. Para alga vermelha, bandas próximas a essa região (412 e 416 nm) também aparecem nos extratos AH e AE. Uma banda em 409 nm também está presente em ambos os extratos CH e CE da alga verde. Essas regiões correspondem às zonas E e F que segundo Schmitz (2017) essas bandas estão em regiões características de clorofilas. Outras bandas se destacaram nos extratos SH e SE (505, 536, 609 e 665 nm), AH e AE (480, 571 e 614 nm) e CE e CH (466, 502, 536, 609 e 665) em que correspondem às zonas que de absorbância de carotenoides.

Bandas nas regiões de 413, 506, 539, 610 e 668 nm foram atribuídas a clorofila *a* presentes no extrato da microalga *Spirulina*. Bandas em 412 nm (também denominada de bandas Soret), que podem estar localizadas em 507, 540, 610 e 667 nm, foram atribuídas a feofitina *a* uma forma livre da clorofila *a* (sem Mg^{2+}) (MAESTRIN *et al.*, 2009).

Assim, os extratos das espécies estudadas podem conter em sua composição, compostos fenólicos, taninos, carotenoides e clorofilas, no entanto, outras técnicas mais específicas são necessárias.

4.1.4 Análise dos extratos das algas no Infravermelho- FTIR

A análise dos espectros no infravermelho pode fornecer indicar os principais estiramentos vibracionais de grupos funcionais presentes nos metabólitos e assim estimar mais informações sobre a composição química dos extratos. Os perfis vibracionais das amostras estão apresentados na figura 4-2, foram destacados oito picos de maior intensidade e comparados com a literatura listada na tabela 4-3.

Os principais estiramentos vibracionais observados nos extratos da alga marrom foram: SA (3418.46 cm^{-1} , 10%T; 2945.71 cm^{-1} , 42.17%T; 1634.28 cm^{-1} , 30.25%T; 1405.15 cm^{-1} , 41.27%T; 1080.63 cm^{-1} , 36.10%T. 626.07, 40.05%T); SH (3396.90 cm^{-1} , 11%T; 1633.03 cm^{-1} , 25.49%T; 1409.13 cm^{-1} , 34.33%T, 1053.52 cm^{-1} , 29.92%T, 625.36 cm^{-1} , 32.91%) e SE (3409.97 cm^{-1} , 5.95%; 2936.65 cm^{-1} , 33.27%; 1635.01 cm^{-1} , 25.74%T; 1404.52 cm^{-1} , 32.50%T; 1261.68 cm^{-1} , 38.22%T, 1079.99 cm^{-1} , 31.10%T; 624.93 cm^{-1} , 33.68%T). É possível observar

que a maioria dos picos são comuns em todos os extratos com pequenos deslocamentos químico.

Os extratos da alga vermelha apresentaram estiramentos vibracionais nas seguintes região: AA (3438.57 cm^{-1} , 44.44%T; 1637.87 cm^{-1} , 56.28%T, 1413.3 cm^{-1} , 64.24%T, 1108 cm^{-1} , 58.37%T; 617.81 cm^{-1} , 59.69%T), AH (3420.21 cm^{-1} , 73.36%T; 1635 cm^{-1} , 80%T; 1408 cm^{-1} , 84.74%T; 1147 cm^{-1} , 85.46%T; 624.8 cm^{-1} , 87.25%T e AE (3433.97 cm^{-1} , 23.5%T; 2091 cm^{-1} , 67.92%T; 1634,93 cm^{-1} , 44.92%T; 1408.91 cm^{-1} , 56.80%T; 1220.16 cm^{-1} , 69.75%T; 1050.91 cm^{-1} , 56.80%T; 617.56 cm^{-1} , 56.63%T). Com a exceção do pico em 1189 cm^{-1} que aparece somente na amostra AA, os demais perfis vibracionais não variaram entre os extratos.

Os extratos da alga verde apresentaram estiramentos nas regiões: CA (3447.80 cm^{-1} , 27.37 %T; 1638.35 cm^{-1} , 56.23 %T; 1420.94 cm^{-1} , 71.03 %T; 602.93 cm^{-1} , 68.83 %T), CH (3420.17 cm^{-1} , 64.73 %T; 1634.16 cm^{-1} , 73.70 %T; 1416.1 cm^{-1} , 77.54 %T; 1044 cm^{-1} , 78,57 %T; 607.35 cm^{-1} , 80.31 %T) e CE (3435.46 cm^{-1} , 40.61 %T; 2924.66 cm^{-1} , 61.96 %T; 2852.37 cm^{-1} , 64.34 %T, 1639 cm^{-1} , 58.97 %T; 1377 cm^{-1} , 68.34 %T; 1044.09 cm^{-1} , 66.69 %T; 608.35 cm^{-1} , 68.45 %T). Assim como nas amostras das algas marrom e vermelha, os perfis vibracionais da alga verde não variaram muito entre os extratos.

Os espectros dos extratos apresentaram perfis semelhantes, mesmo sendo de espécie de algas distintas, ainda assim, foi possível identificar os principais grupos funcionais por meio dos intervalos dos estiramentos vibracionais e comparando-os com os encontrados em estudos anteriores com diferentes gêneros de algas.

O pico 1 apresentou uma banda larga que foi localizada no intervalo de 3600 a 3200 cm^{-1} a qual foi atribuída a presença de estiramento OH que pode ser de álcoois, fenóis ou amins primárias e secundárias.

O pico 2 de baixa intensidade, variou entre as amostras de 2946 – 2925 cm^{-1} e foi atribuída como estiramento assimétrico C – H de átomo de carbono saturado, indicando a existência de estrutura alifática (YANG *et al.*, 2021).

O pico 3 é referente a estiramento C = O de lactonas aromáticas insaturadas, que em estudo anterior foi localizado nas região de 1637.56 e 1697.36 cm^{-1} em extrato etanólico e podem indicar a presença de cumarina e glicosídeos, além de estiramento C=C indicativo presença de terpeno (SUMAYYA; MURUGAN, 2017).

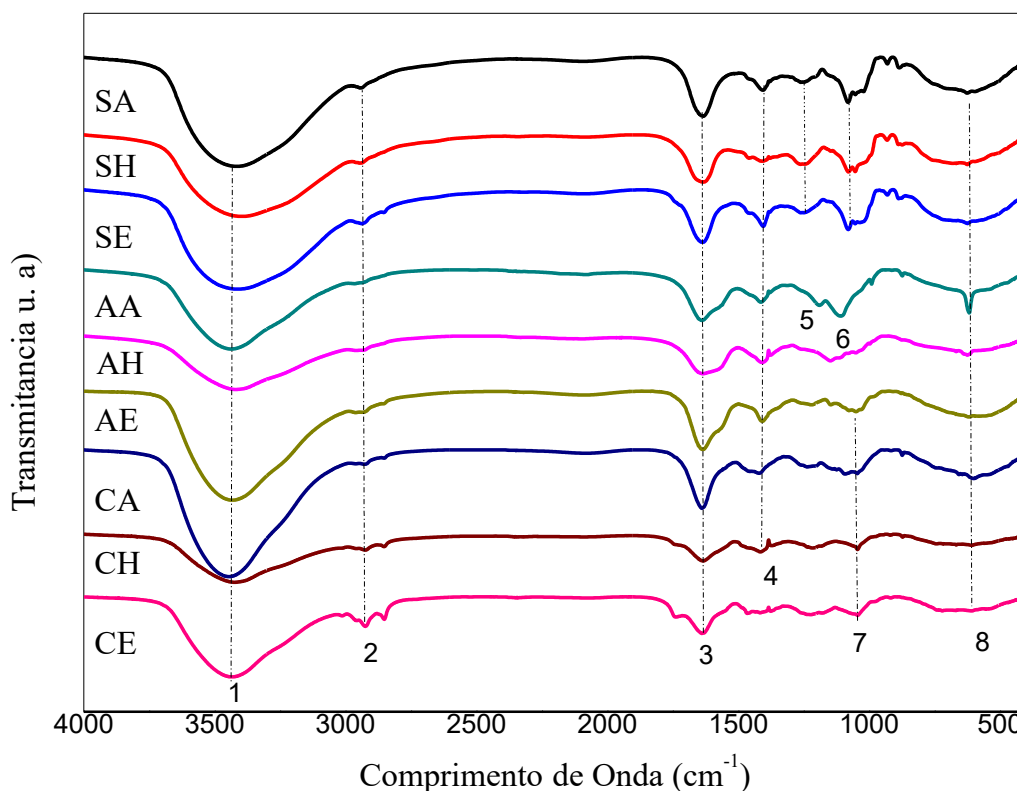


Figura 4-2: FTIR dos extratos das algas *S. vulgare*, *A. triquetrum* e *C. racemosa*.

O pico 4, está localizado no intervalo 1424 -1414 cm⁻¹ nesta região foi atribuída a deformação de grupos OH, C-C e C-H de CH₂ e estiramento C-OH de grupos hidroxila de fenóis (YANG *et al.*, 2021).

Os picos 5 e 6 ocorrem em regiões de estiramento vibracional C-O-C e C-O de carboidratos, éster ou éter (DUYGU *et al.*, 2012; MURDOCK; WETZEL, 2009; SUMAYYA; MURUGAN, 2017).

O pico 7 ocorre em um intervalo do espectro que pode ser atribuídos uma variedade de estiramentos como, C-O de anel piranosil, ésteres, éter e antraquinonas; C-O-C referente a ligação glicosídica ou éter; O-H de carboidratos e C-N de amins alifáticas (SUMAYYA; MURUGAN, 2017).

O pico 8 ocorre em uma região de deformação assimétrica e simétrica de O=S=O de sulfatos e estiramento C-S de sulfetos.

Tabela 4-3: Estiramentos vibracionais presentes nos extratos de algas reportados em outros estudos.

Nº de Picos	Nº de Onda (cm ⁻¹)	Atribuição de grupo funcional	Referências
1	3400 – 3450	Esti. OH de álcool, fenol, hidroxilamida I, amida II	(MOUBAYED <i>et al.</i> , 2017; SELMI <i>et al.</i> , 2021; SUGANYA <i>et al.</i> , 2019)
2	2946 – 2925	Esti. C-H alifático, (C–H)CH ₂ simet. e assimet., C-H (aromático ou vinílico) Esti. C-H de compostos aromáticos	(SELMi <i>et al.</i> , 2021; SHOBHARANI <i>et al.</i> , 2014)
3	1633 – 1638	Esti. Aminas e amidas (1ª e 2ª), C=O; C-H de aldeídos; C=O de cetonas; C=O de proteínas; C=C de terpenos	(DALAL <i>et al.</i> , 2021; HUMAID <i>et al.</i> , 2022; SUMAYYA; MURUGAN, 2017)
4	1420 – 1404	Esti. simétrico de (-COO ⁻) de carboidratos Esti. C-C, C-H de aromáticos	(HUMAID <i>et al.</i> , 2022; PEREIRA <i>et al.</i> , 2003; SUMAYYA; MURUGAN, 2017)
5	1147	Esti. C-O-C; C - O de carboidratos	(DUYGU <i>et al.</i> , 2012; MURDOCK; WETZEL, 2009)
6	1108	Esti. v C - O de carboidratos, éster ou éter	(MURDOCK; WETZEL, 2009; SUMAYYA; MURUGAN, 2017)
7	1080-1044	Esti. C–O de anel piranosil, ésteres, éter e antraquinonas; Esti. assimétrico. C–O–C (ligação glicosídica) Esti. N-H de aminas alifáticas, Esti. O-H de carboidratos	(DALAL <i>et al.</i> , 2021; SHOBHARANI <i>et al.</i> , 2014; SUMAYYA; MURUGAN, 2017)
8	625-603	Defo. assimétrica e simétricas de O=S=O de sulfatos Esti. C-S de Sulfetos	(DALAL <i>et al.</i> , 2021; HUMAID <i>et al.</i> , 2022; NOORJAHAN; AIYAMPERUMAL; ANANTHARAMAN, 2019)

4.1.5 Análise de Cromatografia Líquida acoplada a Espectrometria de Massa de alta resolução (LC-MS)

Os perfis dos metabólitos presentes nos extratos aquosos, hidroacoólicos e etanólicos das algas *S. vulgare*, *A. triquetrum* e *C. racemosa* foram investigados no modo de ionização positiva e com base na comparação das razões massa/carga dos íons e fragmentos das amostras com os dados publicados nas literaturas listadas na tabela 4-4 que resultou na detecção de 43

compostos, distribuídos entre metabólitos primários e secundários (os cromatogramas MS/MS podem ser consultados no apêndice A). Foram identificados 15 compostos nos extratos da alga marrom, 20 nos extratos da alga vermelha e 12 compostos nos extratos da alga verde. Maioria dos fragmentos MS/MS foram confirmados, mas outros compostos não foram encontrados informações dos fragmentos para comparação dos compostos. E devido à escassez de bancos de dados e bibliotecas de massas que forneça padrões comparativos de metabólitos de algas marinhas, muitos compostos nos cromatogramas dos extratos não foram identificados, conforme mostram o quadro 1, 2 e 3 no apêndice B.

Os ácidos graxos são metabólitos primários que foram reconhecidos nos extratos, em alguns casos, são comuns em mais de um gênero das macroalgas estudadas. No total foram identificados cinco tipos, como ácido estearidônico (**01**) com $[M + H]^+$ 277 e fragmentos 121 e 149 confirmados com a literatura listada está ausente nos extratos etanólicos e aparece em todos os extratos aquoso e hidroalcoólicos das espécies de algas (SA, SH, AH, CA e CH) e em diferentes tempo de retenção conforme mostram os cromatogramas MS/MS no apêndice A, sugerindo que outros isômeros podem também está presente. Este ácido graxo é poliinsaturado e constitui o primeiro metabólito do ácido α -linolênico na via metabólica que leva aos ácido eicosapentaenoico e o ácido docosahexaenoico (**03**) $[M + H]^+$ 329 que estar presente apenas no extrato SA, e é reconhecido por desempenhar várias funções fisiológicas no corpo humano e ambos ácidos graxos estão presentes em algas marinhas como, *Undaria pinnatifida*, *Ulva pertusa*, *Palmaria palmata*, *Laminaria digitata*, *Saccharina latissima* e *Ascophyllum nodosum* (GUIL-GUERRERO, 2007; ISHIHARA *et al.*, 2000).

A oleamida 9-octadecenamida (**04**) $[M + H]^+$ 282 com fragmento 149 confirmado na literatura listada na tabela 4-4, e estar presente apenas no extrato SA, é reconhecida por possui ação como agente hipolipidêmico potente na diminuição de triglicerídeos -TG sérico, colesterol total -TC, lipoproteínas de baixa densidade - LDL-C e TG hepático e está presente em diversas espécies de algas (CHENG *et al.*, 2010; FAN *et al.*, 2024; OKUNOWO *et al.*, 2016); também foram identificados a mistura dos isômeros como o ácido 5Z,8Z,11Z,14Z-octadecatetraenóico e ácido octadeca-2,4,6,8-tetraenóico (**24**) com $[M + H]^+$ 277 nos extratos SE, AH e AE em intervalos de tempos de retenção próximos, além da mistura dos isômeros 13-docosenamida e erucamida (**25**) com $[M + H]^+$ 338 presente apenas no extrato AH. Estes compostos são os principais aleloquímicos derivados de algas marinhas que exercem efeitos estimulantes ou inibitórios no crescimento e característica adaptativa em resposta a mudanças ambientais (FAN *et al.*, 2024).

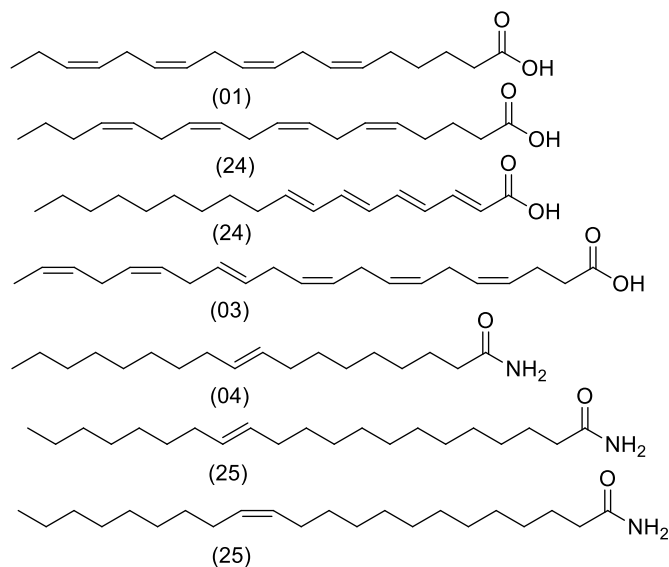


Figura 4-3: Estruturas dos ácidos graxos identificados nos extratos das algas *S. vulgare*, *A. triquetrum* e *C. Racemosa*

As macro e microalgas são reconhecidas como fontes de lipídios com grande qualidade nutricional e bioatividades atrativas. Foram reconhecidos quatro lipídios polares distribuídos entre lipídios betaina como como diacilgliceril-carboxi-hidroxi-metilcolina (DGCC) e monoacilglicerol-trimetil homoserina (MGTS). Como os compostos **(10)** MGTS (20:4) com $[M + H]^+$ 522 e fragmentos 100 e 114 confirmados com a literatura listada na tabela 4-5, também o composto **(12)** MGTS (18:1) com $[M + H]^+$ 500 e fragmentos confirmados 100, 114 e 236, além do composto **(13)** MGTS (16:0) com $[M + H]^+$ 474 com MS/MS 100 e 236 confirmados e presentes apenas no extrato SH da alga marrom. O composto **(40)** DGCC (29:2;0) com $[M + H]^+$ 698 e MS/MS 109 está presente apenas no extrato CA em diferentes intervalos de tempo de retenção, sugerindo a presença de possíveis isômeros não identificados.

Os carboidratos são metabólito primário comum no gênero *Sargassum*, no entanto apenas o ácido 6-fosfogluônico ou 6-fosfogluconato **(17)** de $[M + H]^+$ 277 e fragmento 121 foi confirmado no extrato SE da alga marrom. É um monossacarídeo reconhecido como intermediário nas vias das pentoses fosfato e está presente em todas as espécies vivas incluindo as algas como *Spirulina platensis* e *Saccharina japonica* (GHALLAB *et al.*, 2022; KIM, 2011). Os demais extratos não foram identificados a presença de carboidratos, em parte isso se deve a ausência de bancos de dados com padrão de MS/MS específicos para algas marinhas.

Uma classe de aminoácidos responsáveis pela fotoproteção no ultravioleta de diversos organismos aquáticos com ação biogênicos de filtro solar, denominados por micosporinas

(MAAs) (ORFANOUDAKI *et al.*, 2023), foram identificados nos extratos das algas estudadas. Destacando-se o ácido micosporina-glutâmico (**02**) com $[M + H]^+ 318$ e hexose-palitina-serina (**05**) com $[M + H]^+ 437$ que estão presentes apenas no extrato SA; além do gadusol (**06**) com $[M + H]^+ 205$ e fragmento 85 confirmado e a micosporina hidroxiglutamicol (**07**) com $[M + H]^+ 320$ que estão presentes apenas no extrato SH da alga marrom. Outro tipo de aminoacido denominado catenelina (**22**) com $[M + H]^+ 383$ identificado nos extratos AA e AH e está presente em apenas algas vermelhas (GERALDES; PINTO, 2021; HARTMANN *et al.*, 2015; KUNDU *et al.*, 2023; ORFANOUDAKI *et al.*, 2023; URREA-VICTORIA *et al.*, 2023).

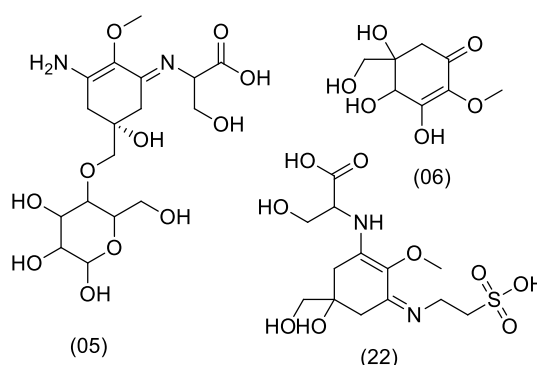


Figura 4-4: Estruturas dos aminoacidos identificados nos extratos das algas *S. vulgare*, *A. triquetrum* e *C. racemosa*

Dois esteroides foram identificados como, o 24,25-epoxi-colesterol (**11**) de $[M + H]^+ 401$ presente apenas no SH da alga marrom. Este oxisterol possui atividade de supressão a ativação dos reguladores mestres da homeostase do colesterol, as proteínas de ligação do elemento regulador do esterol (BROWN, 2009). Além do digitoxigenina (**27**) com $[M + H]^+ 358$ presente no extrato AE da alga vermelha, que foi avaliado como produtos antiincrustantes naturais com o potencial comercial (LIU *et al.*, 2018). As vitaminas também se incluem na classe dos esteroides, elas são secosteróides, ou seja, esteroides com anel quebrado como, o colecalciferol (**26**) de $[M + H]^+ 384$, identificado no extrato AE, reconhecido comercialmente como vitamina D3, é produzida por exposição a radiaçãoUVB e por diferentes espécies de algas (JÄPELT; JAKOBSEN, 2013; MUSTAFA; MOBASHIR, 2020).

As clorofilas fazem parte do metabolismo primários das plantas, algas e outros organismos, e foram identificadas cinco tipos de clorofilas e produtos derivados da degradação de clorofila nos extratos como, harderoporfirina (**20**) com $[M + H]^+ 609$ e MS/MS 489 confirmado e presentes apenas nos extratos aquoso AA e CA das algas vermelha e verde. É um

pigmento membro das porfirinas que faz parte do conteúdo de metabólitos de diferentes gêneros e espécies de macroalgas como, *S. polycystum*, *Dictyota dichotoma*, *D. fasciola*, *C. racemosa* e *C. lentillifera* (HARON *et al.*, 2022; MARTI' C *et al.*, 2023; YAP *et al.*, 2019). O composto 15-Hidroxi-lactonea-feoforbídeo *a* (**21**) com $[M + H]^+$ 625 e fragmento 537 presente no extrato AA, e a feoforbídeo *a* (**23**) com $[M + H]^+$ 593 confirmado os fragmentos 460, 461, 505, 533, e 593, e estar presente apenas no extrato AH da alga vermelha, sendo reconhecido por exibir atividades antitumoral cutânea em camundongos e para tratamento de doenças neurodegenerativas (CHEN *et al.*, 2017; INA *et al.*, 2007). Além dos compostos 13-hidroxi-clorofila *c* (**34**) de $[M + H]^+$ 625, presente nos extratos AE e CA e 10-hidroxifeoforbídeo *a* (**43**) de $[M + H]^+$ 609, presente no extrato CH, são produtos derivados de clorofilas que estão presente em diferentes gêneros de algas como, *Isochrysis galbana*, *Enteromorpha spp.*, *Ulva spp.*, *Sea Lettuce*, *Undaria pinnatifida*, *Laminaria ochroleuca*, *Pontevedra Spain*, *Sirophysalis trinodis*, *Polycladia myrica*, e *Turbinaria triquetra*.

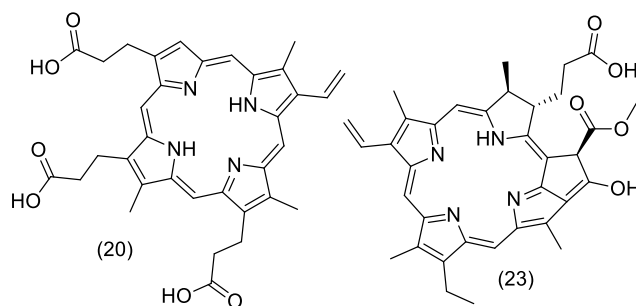


Figura 4-5: Estruturas de clorofilas identificadas nos extratos das algas *S. vulgare*, *A. triquetrum* e *C. racemosa*

Os terpenos são metabólitos secundários que foram reconhecidos em alguns extratos como, α -cumyl alcohol (**14**) de $[M + H]^+$ 137 e estar presente no extrato SE da alga marrom, é um monoterpênóide aromático identificado anteriormente na *Padina pavonica* e *Halimeda opuntia*, e comum em diferentes espécies marinhas; o trans-calamenene (**18**) de $[M + H]^+$ 203 identificado no extrato AA, é um sesquiterpeno presente em extrato de plantas terrestres e algas marinhas (ATTIA *et al.*, 2022; DJAPIC, 2023; SILVA *et al.*, 2024); o dictyotatriol *a* (**38**) de $[M + H]^+$ 323 e 7 beta-hidroxi-latirol (**39**) de $[M + H]^+$ 335 ambos presentes nos extratos AE e CE, foram reconhecidos em algas dos gêneros, *Dictyota dichotoma*, *Dictyota fasciola* e *Gracilaria manilaensis* (MARTI' C *et al.*, 2023; PANG *et al.*, 2022).

Os carotenoides são tetraterpenóides com 40 carbonos unidos por unidades opostas no centro da molécula, com cadeia poliênica que pode ter de 3 a 15 duplas ligações conjugadas e nas plantas acumulam-se em cloroplastos como uma mistura complexados não-covalentemente com proteínas (UENOJO; MARÓSTICA; PASTORE, 2007). Foram reconhecidos dois tipos de carotenoides na forma de mistura de isômeros, como, luteína e zeaxantina (**33**) com $[M + H]^+$ 569 e 4-cetoluteína D e 4- cetoluteína F (**35**) com $[M + H]^+$ 583 no extrato AE. Estes compostos fazem parte dos metabólitos de diferentes tipos de algas como *Chlorophyta* e *Rhodophyta* (BHAT *et al.*, 2021), no entanto, foram identificados apenas no extrato etanólico da alga vermelha neste estudo.

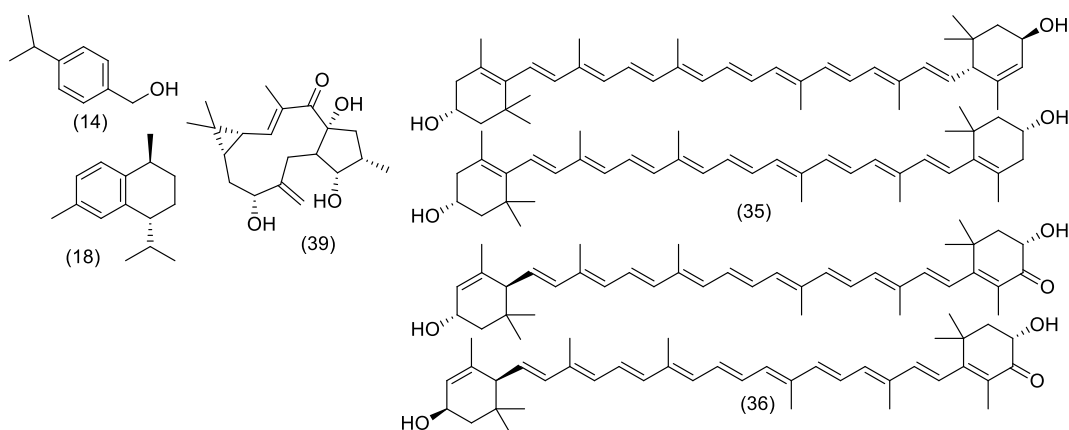


Figura 4-6: Estruturas de terpenoides identificadas nos extratos das algas *S. vulgare*, *A. triquetrum* e *C. racemosa*.

Outros metabólitos como, 1-hidroxi-5-fenil-3-pentanona(**08**) com $[M + H]^+$ 179, identificados nos extratos SH e SE, é um álcool graxo reportado como um metabólito com ação antiparasitária presente na alga *Sargassum polycystum* (HARON *et al.*, 2022) e isololiolide (**09**) com $[M + H]^+$ 197 e MS/MS 115 confirmado, presente apenas no extrato SH, é um benzofurano produto da degradação da fucoxantina, tem grande potencial na indústria farmacêutica, com ação repelente, imunossupressora, citotóxica contra carcinoma nasofaríngeo, leucemia linfocítica, mecanismo antioxidante e capacidade protetora das células contra o processo de apoptose (MOTA; COSTA, 2021).

O compostos fenólicos são uma classe bem variada dos metabólitos secundários e nos extratos foram identificados nove tipos de flavonoides, como, 7-o-metilwogonina (**19**) com $[M + H]^+$ 299, presente apenas no extrato AA, é um tipo de flavona encontrada na raiz e parte aérea de planta, e está presente em algas marinhas, e em estudo anterior inibiu a liberação de

histamina em células leucêmicas basófilas de ratos de maneira dependente da dose (SINGH; KRITI; RENU, 2019). O extrato AE foi a amostra com maior variedades de flavonoides como catequina (**28**) com $[M + H]^+$ 291, possui atividade neuroprotetora, como quelação de ferro, eliminação de radicais, ativação de genes de sobrevivência e vias de sinalização celular, e regulação da função mitocondrial e possivelmente do sistema ubiquitina-proteassoma (MANDEL; YODIM, 2004); assim também o 5,8,2'-tri-hidroxi-7-methoxiflavona(**29**) com $[M + H]^+$ 301; a quercetina 3-soforosideo(**30**) com $[M + H]^+$ 627, é um membro principal do grupo dos glicosídeos de quercetina, é um composto comestível, com ação anti-inflamatório, antioxidante e anticancerígeno (KHAN *et al.*, 2021); efedranina a (**32**) com $[M + H]^+$ 557, é um oligômero flavonoide que pertencentes à família de proantocianidinas do tipo A que exibiu fortes efeitos anti-inflamatório em macrófagos (KIM *et al.*, 2010); e quercetina-o-rutinosideo (**36**) com $[M + H]^+$ 611, este flavonoide possui ação de regular resposta antioxidante e inflamatória celular, protegendo significativamente o trato gastrointestinal contra danos induzidos pela radiação gama, minimizando o evento apoptótico (SHARMA *et al.*, 2023). O abyssinona VI (**37**) com $[M + H]^+$ 393 presente no extrato CA, é uma chalcona pertencentes à família dos flavonoides, que exibiu efeito inibitório dependente da dose contra as atividades das neuraminidases virais da gripe H1N1 e H9N2 (NGUYEN *et al.*, 2010); e por fim o dímero de catequina conhecido ,8,8'-metilenobiscatequina (**41**) com $[M + H]^+$ 593 presente no extrato CH da alga verde.

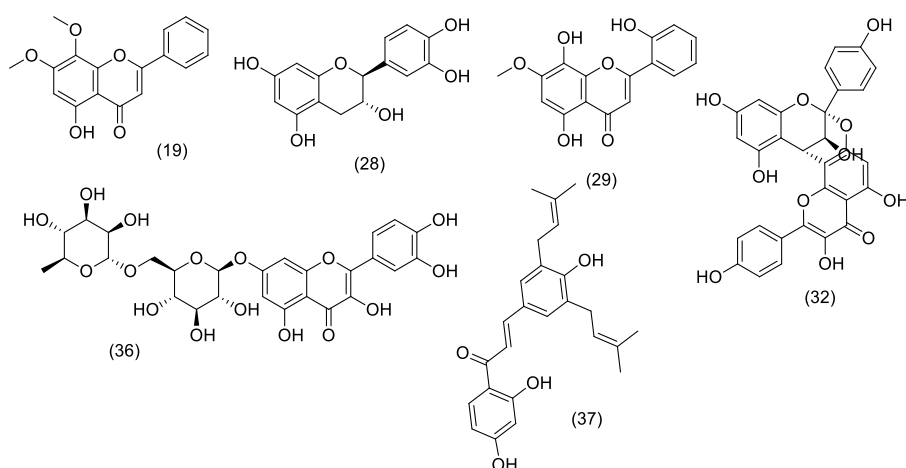


Figura 4-7: Estruturas dos flavonoides identificados nos extratos das algas *S. vulgare*, *A. triquetrum* e *C. racemosa*

Os alcaloides também fazem parte do metabolismo secundário das algas e estão presentes em algumas amostras das algas analisadas. No extrato SE foi identificado dois

alcaloides, como, desmetilalangisida (**15**) de $[M + H]^+$ 492 tem potencial ação moduladora no metabolismo de glicose (MAGWAZA *et al.*, 2024) e militarinona A (**16**) com $[M + H]^+$ 460, é relatado por conter efeitos fúngico e neuroproteção (KÜENZI *et al.*, 2008; PANG *et al.*, 2022). No extrato AE o composto haplofitina (**31**) com $[M + H]^+$ 653, é um alcaloide de quinolina, que possui atividade apoptótica em células de leucemia (WON *et al.*, 2010); e no extrato CH foi identificado o composto caulerpina (**42**) com $[M + H]^+$ 499 e confirmado o fragmento 279, um alcaloide bisindol presente em maior concentração no gênero *Caulerpa* (DE SOUZA *et al.*, 2009; LIU. *et al.*, 2013) apresentando atividades antiviral e inseticida (ALARIF *et al.*, 2010; CHADHA; SILAKARI, 2017; MACEDO *et al.*, 2012).

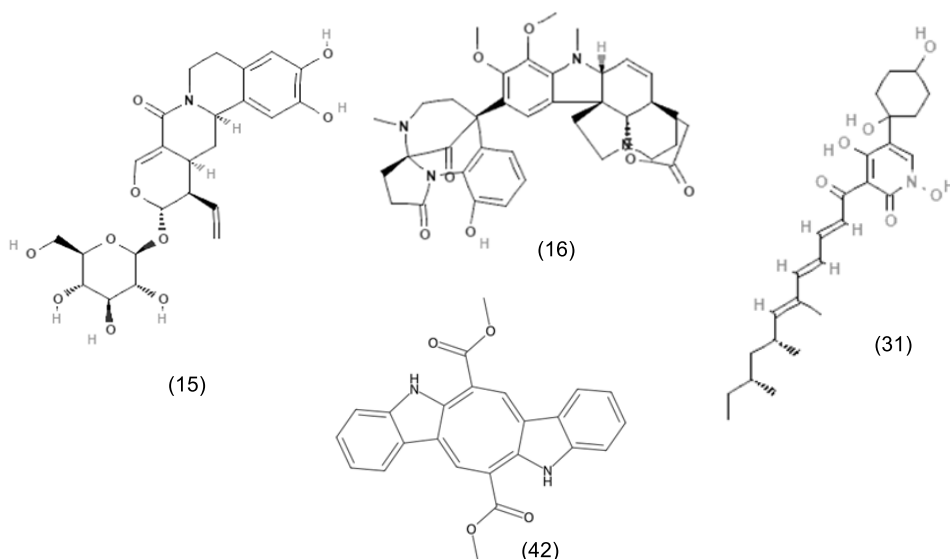


Figura 4-8: Estruturas de alcaloides identificados nos extratos das algas *S. vulgare*, *A. triquetrum* e *C. racemosa*

Os resultados da composição química dos extratos por LCMS estão em concordância com as demais análises anteriores previram a presença de alguns compostos, como, aminoácidos do tipo micosporina, de compostos fotossinteticamente ativos, como carotenoide e clorofilas, e presença de banda B de compostos fenólicos, como flavonoides nos espectros de UV-vis dos extratos, e FTIR.

Tabela 4-4: Metabólitos encontrados nos extratos das algas *S. vulgare*, *A. triquetrum* e *C. racemosa* usando análise LC-MS no modo positivo

Nº	Composto proponente	Formula molecular	RT (min)	Massa mono - isotópica	[M + H] ⁺ Teórico	[M + H] ⁺ Observado	MS/MS	Classe	Algas	Referencias
01	Ácido estearidônico ^{1, 2, 5, 7, 8}	C ₁₈ H ₂₈ O ₂	6.3, 13.9 16.4, 20- 24.9	276.21	277.22	277.22	93, *121, *149	Ácido graxo	<i>P. palmata</i> , <i>L. digitata</i> , <i>S. latissima</i> and <i>A. nodosum</i>	(BONDE <i>et al.</i> , 2021)
02	Micosporina - ácido glutâmico ¹	C ₁₃ H ₁₉ NO ₈	19.3	317.30	318.10	318.28	91	Oxo-micosporina	Fungi	(GERALDES; PINTO, 2021)
03	Ácido docosa-hexaenoico ¹	C ₂₂ H ₃₂ O ₂	21.1	328.24	329.25	329.09	266	Ácido graxo	<i>L. digitata</i> , <i>S. latissima</i> and <i>A. nodosum</i> .	(BONDE <i>et al.</i> , 2021)
04	9-Octadecenamida ¹	C ₁₈ H ₃₅ NO	23.1	281.27	282.28	282.11	*149	Amidas de ácidos graxos	<i>D. dichotoma</i> <i>D. fasciola</i>	(MARTÍĆ <i>et al.</i> , 2023)
05	Hexose-palitina-serina ¹	C ₁₇ H ₂₈ N ₂ O ₁₁	24.6	436.17	437.20	437.25	95	Imino-micosporina glicosada	Cyanobacteria	(GERALDES; PINTO, 2021)
06	Gadusol ²	C ₈ H ₁₂ O ₆	5.2	204.06	205.40	205.06	*85	Aminoácido precursor de Micosporina	Arthropoda, Chordata, Lichen	(GERALDES; PINTO, 2021)

07	Micosporina hidroxiglutamicol₂	C ₁₃ H ₂₁ NO ₈	5.5-5.6	319.13	320.10	320.72	113	Oxo-micosporina	Lichen	(GERALDES; PINTO, 2021)
08	1-Hidroxi-5-fenil-3-pentanona_{2,3}	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	7.9, 8.3	178.10	179.11	179.10	91	Álcool graxo	<i>S. polycystum</i>	(HARON <i>et al.</i> , 2022)
09	iso-Loliolida²	C ₁₁ H ₁₆ O ₃	8.3- 8.4	196.12	197.12	197.11	91, *115	Benzofurano produto da degradação da fucoxantina	<i>T. triquetra</i> , <i>S. rinodis</i> , and <i>P. myrica</i> ,	(ATTIA <i>et al.</i> , 2022; FAHMY <i>et al.</i> , 2023; MARTIĆ <i>et al.</i> , 2023)
10	MGTS (20:4)²	C ₃₀ H ₅₁ NO ₆	24.9-25, 25.5, 25.8	521.37	522.38	522.38	91, *100, *144, 216, 236	Lipídio	<i>S. trinodis</i> , <i>P. myrica</i> , and <i>T. triquetra</i> ,	(FAHMY <i>et al.</i> , 2023)
11	24,25-Epóxi-colesterol²	C ₂₇ H ₄₄ O ₂	25.9	400.33	401.34	401.34	95	Esteróide	<i>Gracilaria manilaensis</i>	(PANG <i>et al.</i> , 2022)
12	MGTS (18:1)²	C ₂₈ H ₅₃ NO ₆	26.1-26.2, 27.2	499.39	500.39	500.39	95, *100, *144, *236, 500	glicerolipídio	<i>T. triquetra</i> , <i>S. trinodis</i> , <i>P. myrica</i> ,	(FAHMY <i>et al.</i> , 2023)
13	MGTS (16:0)²	C ₂₆ H ₅₁ NO ₆	26.4-26.5	473.37	474.37	474.38	81, *100, 119, *236	glicerolipídio	<i>T. triquetra</i> , <i>S. rinodis</i> , and <i>P. myrica</i> ,	FAHMY, N. M. <i>et al.</i> , 2023)
14	Álcool α-cumílico³	C ₉ H ₁₂ O	6.0	136.05	137.06	136.99	92	Terpeno	<i>P. pavonica</i> <i>H.opuntia</i>	(ATTIA <i>et al.</i> , 2022)

15	Desmetilalangisida ³	C ₂₄ H ₂₉ NO ₁₀	12,5	491.18	492.10	492.37	430	Alcalóide	<i>A. longifolius</i>	(MAGWAZ A <i>et al.</i> , 2024)
16	Militarinona a ³	C ₂₆ H ₃₇ NO ₆	14.4	459.26	460.27	460.36	91, 458	Alcalóide piridínico	<i>G. manilaensis</i>	(PANG <i>et al.</i> , 2022)
17	ácido 6-fosfogluconico ³	C ₆ H ₁₃ O ₁₀ P	24.8	276.02	277.20	277.22	*121, 149	Monossacari deo	<i>U. fasciata</i> , <i>P. capilácea</i> , <i>S. hornschurchii</i>	(GHALLAB <i>et al.</i> , 2022)
18	trans-Calamenene ⁴	C ₁₅ H ₂₂	0.4	202.17	203.18	203.06	85	Terpeno	<i>P. pavonica</i> and <i>H. opuntia</i>	(ATTIA <i>et al.</i> , 2022)
19	7- O -Metilwogonina ⁴	C ₁₇ H ₁₄ O ₅	20.2	298.08	299.10	299.23	280, 308	Flavonoide	<i>A. paniculata</i>	(DWIVEDI <i>et al.</i> , 2021)
20	Harderoporfirina ^{4,7}	C ₃₅ H ₃₆ N ₄ O ₆	19.0, 19.3, 19.8, 20.0 24.7-24.8	608.26	609.27	609.27	109, 407,421, 461, 475, 476, 477, *489, 503, 521, 531, 550	Clorofila	<i>S. polycystum</i>	(HARON <i>et al.</i> , 2022; MARTI'C <i>et al.</i> , 2023; YAP <i>et al.</i> , 2019)
21	15 - hidroxilactona feoforbídeo-a ⁴	C ₃₅ H ₃₆ N ₄ O ₇	26.2	625.27	625.27	625.26	451, 493, 531, *537	Clorofila	<i>P. umbilicalis</i> , <i>Ulva</i> , <i>Enteromorpha</i> <i>spp.</i> , <i>L.</i> <i>Ochroleuca</i> , <i>U.</i> <i>pinnatifida</i>	(CHEN <i>et al.</i> , 2017)

22	Catenelline ^{4,5}	C ₁₃ H ₂₂ N ₂ O ₉ S	22.6, 26.4, 29.1	382.39	383.11	383.24	81, 91, 109	Aminoácido semelhante à micosporina	<i>Catenella repens.</i> <i>Catenella nipae</i>	(GERALDE S; PINTO, 2021; HARTMAN N <i>et al.</i> , 2015)
23	Feoforbida a ⁵	C ₃₅ H ₃₆ N ₄ O ₅	14, 20.1- 22.7	592.26	593.27	593.2763	109,* 460 , * 461 ,* 505 * 533 , * 593	Clorofila	<i>T. triquetra</i> , <i>S.</i> <i>trinodis</i> , <i>P.</i> <i>myrica</i> , <i>C.racemosa</i> , <i>D.dichotom</i> , <i>D.</i> <i>fasciola</i>	(BUSTAMA M <i>et al.</i> , 2021; CHEN <i>et al.</i> , 2017; FAHMY <i>et</i> <i>al.</i> , 2023; MARTI' C <i>et</i> <i>al.</i> , 2023; YAP <i>et al.</i> , 2019)
24	Mistura de isômeros: Ácido 5Z,8Z,11Z,14Z- octadecatetraenóico e Ácido octadeca-2,4,6,8-tetraenóico ^{3, 5, 6}	C ₁₈ H ₂₈ O ₂	20.4-26.8	276.21	277.21	277.22	91, 95	Ácido graxo	<i>C.racemosa</i> ; <i>C.purpureu</i> ; <i>C.lentillifera</i> ; <i>P.</i> <i>palmata</i>	(BONDE <i>et</i> <i>al.</i> , 2021; LIU <i>et al.</i> , 2013; YAP <i>et al.</i> , 2019)
25	Misturas de isomeros 13- Docosenamida e Erucamida ⁵	C ₂₂ H ₄₃ NO	28.1	337.33	338.34	338.34	93	Ácido graxo	<i>S. polycystum</i>	(HARON <i>et</i> <i>al.</i> , 2022; MABROUK <i>et al.</i> , 2020; MARTI' C <i>et</i> <i>al.</i> , 2023)
26	Colecalciferol ⁶	C ₂₇ H ₄₄ O	9.7	384.34	384.34	384.18	284	Vitamina	Fucoidan	MUSTAFA; MOBASHIR , 2020)

27	Digitoxigenina ⁶	C ₂₃ H ₃₄ O ₃	23.3	358.25	358.86	358.35	160	Esteróide	<i>C. racemosa</i>	(SANGER <i>et al.</i> , 2023)
28	Catequina ⁶	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	23.4	290.08	291.00	291.19	91	Flavanoide	<i>U. intestinalis</i>	(WEKRE <i>et al.</i> , 2019)
29	5,8,2'-Tri-hidroxi-7-metoxiflavona ⁶	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	24.1	300.27	301.10	301.14	91	Flavonoide	<i>A. paniculata</i> (plant)	(DWIVEDI <i>et al.</i> , 2021)
30	Quercetina 3-soforosídeo ⁶	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₇	24.4	626.15	627.17	627.46	97, 116, 380	Flavona Glicosídeo	<i>N. oculata</i> (microalga)	LOMAKOO L <i>et al.</i> , 2023)
31	Haplofitina ⁶	C ₃₇ H ₄₀ N ₄ O ₇	24.7	652.29	653.30	653.48	116, 184, 380	Alcalóide indol	<i>G. manilaensis</i>	(PANG <i>et al.</i> , 2022)
32	Efedranina A ⁶	C ₃₀ H ₂₀ O ₁₁	24.9	556.10	557.11	557.42	95, 116	Flavonoide	<i>S. polycystum</i>	(HARON <i>et al.</i> , 2022)
33	Misturas de isómeros: Luteína e Zeaxantina ⁶	C ₄₀ H ₅₆ O ₂	25.7	568.43	569.54	569.45	97, 116, 380	Carotenoide	<i>H. pluvialis</i>	(PRASAIN <i>et al.</i> , 2005; RANGA <i>et al.</i> , 2009)
34	13-Hidroxi-Chlorofila c ^{6, 7}	C ₃₅ H ₂₈ MgN ₄ O ₆	25.8, 26.1-26.2	624.92	625.19	625.45	79, 97, 109, 116, 236, 380, 421, 451, 523	Clorofila	Enteromorpha spp., Ulva spp., <i>P. umbilicalis</i>	(CHEN <i>et al.</i> , 2017)
35	Misturas de isómeros: 4-Cetoluteína D e Cetoluteína F ⁶	C ₄₀ H ₅₄ O ₃	25.9	582.41	583.41	583.46	116, 380	Carotenoide	<i>C. racemosa</i> , <i>C. lentillifera</i>	(YAP <i>et al.</i> , 2019)

36	Quercetina-7-o-rutinosídeo ⁶	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	26.6	610.52	611.00	611.29	561, 521, 611	Flavonoide	<i>D. antarctica</i> , <i>L. spicata</i> , and <i>M. integrifolia</i> (OLATE-GALLEGOS <i>et al.</i> , 2019)
37	Abissinona VI ⁷	C ₂₅ H ₂₈ O ₄	15	392.19	393.30	393.08	268	Flavonoide	<i>A. longifolius</i> (MAGWAZ <i>A et al.</i> , 2024)
38	Dictyotatriol A ^{7,9}	C ₂₀ H ₃₄ O ₃	17.7, 24.9	322.25	323.26	323.12	240, 266	diterpenos	<i>D. dichotoma</i> and <i>D. fasciola</i> (MARTI'Ć <i>et al.</i> , 2023)
39	7beta-hidroxiatirol ^{7,9}	C ₂₀ H ₃₀ O ₄	17.9, 25.0	334.21	335.22	335.08	88, 91	diterpenos	<i>G. manilaensis</i> (PANG <i>et al.</i> , 2022)
40	DGCC (29:2;O) ⁷	C ₃₉ H ₇₁ NO ₉	20.9-21, 21.2, 21.4, 21.7	697.51	698.52	698.48	95, *109, 144, 236, 460, 474	glicerolípido	<i>S. trinodis</i> , <i>P. myrica</i> , and <i>T. triquetra</i> FAHMY, N. M. <i>et al.</i> , 2023)
41	8,8'-Metilenobiscatequina ⁸	C ₃₁ H ₂₈ O ₁₂	18.8, 19.9,	592.16	593.15	593.33	109	Flavona	<i>Nostoc sp.</i> LOMAKO OL <i>et al.</i> , 2023)
42	Caulerpin ⁸	C ₂₄ H ₁₈ N ₂ O ₄	21.4	398.13	399.13	399.24	*279	Alcaloide	<i>C. racemosa</i> (PRAYOG O <i>et al.</i> , 2024)
43	10-Hidroxifeoforbídeo a ⁸	C ₃₅ H ₃₆ N ₄ O ₆	28.1	608.26	609.27	609.27	109, 477, 521	Produto da decomposição da clorofila	<i>Chlorella</i> , <i>H. pluvialis</i> ; <i>D. dichotoma</i> and <i>D. fasciola</i> ČINČÁRO VÁ <i>et al.</i> , 2021; MARTI'Ć <i>et al.</i> , 2023)

^a[M+H]⁺ base de dados: MS⁺ encontrada na literatura; ^b[M + H]⁺ observado nos extratos das algas; MS/MS fragmentos que coincidem com a literatura.

¹ Composto identificado nos extratos: ¹SA; ² SH; ³ SE; ⁴ AA; ⁵AH; ⁶AE; ⁷CA; ⁸ CH e ⁹CE

4.2 ANÁLISE DA VIABILIDADE CELULAR

Nesta subseção são abordados os resultados da citotoxicidade *in vitro* dos extratos das aquoso, hidroalcoólico e etanólico das algas *S. vulgare*, *A. triquetrum* e *C. racemosa* em células renais no intervalo de concentrações de 3 a 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ apresentados na Figura 4-3.

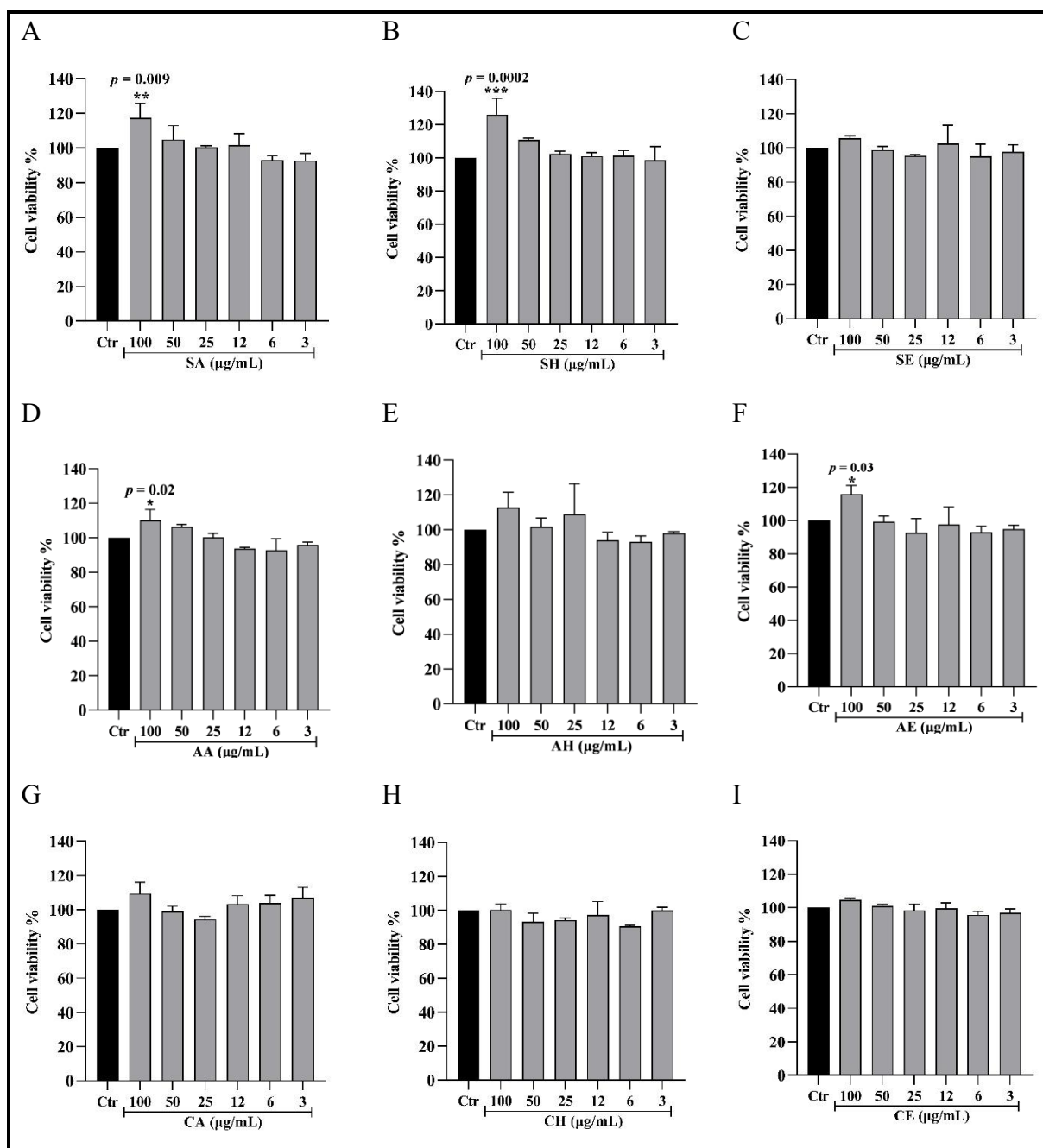


Figura 4-9: Análise da viabilidade celular dos extratos aquoso, hidroalcoólico e etanólico das algas *S. vulgare* (A, B e C), *A. triquetrum* (D, E e F) e *C. racemosa* (G, H e I).

Os gráficos mostram que todos os extratos apresentaram viabilidade celular de 100 %, semelhante ao grupo controle (sem a presença dos extratos). Estes resultados sugerem que os extratos são biocompatíveis para as células testadas. A proliferação celular foi estimulada em algumas amostras em concentrações acima de $25 \mu\text{g. mL}^{-1}$, como foi observado nos extratos SA e SH da figura 4-9 (A e B) e nos extratos AA e AE da figura 4-9 (D e F). Não foram encontradas diferenças estatísticas significativas entre as concentrações testadas para as amostras SE, AH, CA, CH e CE ($p > 0,05$).

Possivelmente o efeito proliferativo celular observado nos extratos SA, SH, AA e AE, pode estar relacionado com a composição química dos metabólitos primários e secundários, tais como, ácidos graxos, aminoácidos, lipídios, fucoxantina, esteroides, terpenos, flavonoides, clorofilas, alcaloide, carotenoides e outros.

São encontrados poucos estudos que avaliaram a citotoxicidade celular em algas marinhas reportando o efeito proliferativo celular, um dele é estudo de Pinheiro (2021) que avaliou o efeito proliferativo celular da lectina isolada da alga *A. triquetrum* de feridas induzidas em modelos experimentais *in vivo* e *in vitro*. Os resultados confirmaram que a migração celular ocorreu em 24 horas, apresentando o fechamento total da área da lesão nos poços, além das feridas cutâneas em camundongos que mostraram total reestruturação da camada epitelial e de tecido conjuntivo tratados com lectina da alga. Houve biocompatibilidade nas concentrações abaixo de $250 \mu\text{g. mL}^{-1}$ com viabilidade acima de 80% nos tempos de 24 e 48 horas (PINHEIRO, 2021).

Salari *et al.*, (2022) avaliou o efeito tóxico do extrato de *Sargassum angustifolium* na morte de células SH-SY5Y induzida por metanfetamina. A sobrevivência das células foi medida enquanto eram tratadas com diferentes concentrações simultâneas de metanfetamina e extrato etanólico da alga a 80%. Os resultados demonstraram que o extrato de *S. angustifolium* foi viável para as células nas concentrações testadas ($80, 160, 320$ e $640 \mu\text{g mL}^{-1}$) após 24 horas (SALARI *et al.*, 2022). Um outro estudo avaliou o potencial de cicatrização de feridas de duas espécies de algas marinhas *Sargassum ilicifolium* e *Ulva lactuca*. Os resultados mostraram que o extrato aquoso de *S. ilicifolium* induziu a proliferação de fibroblastos de camundongos (L929), em comparação com células tratadas com *U. lactuca* e células no grupo controle. Obteve-se melhor efeito da migração celular na concentração $7,79 \mu\text{g mL}^{-1}$ (PREMARATHNA *et al.*, 2021).

Os polissacarídeos extraídos de algas marinhas são mencionados por possuírem propriedades cicatrizantes. Um estudo de Sellimi *et al.*, (2018) avaliou o polissacarídeo,

laminaran, extraído da alga marrom *Cystoseira barbata*, que demonstrou ser eficaz para cicatrização de feridas induzidas em ratos. Os resultados mostraram que o creme contendo o ingrediente ativo da alga exerceu um efeito de promoção da ferida atingindo $98,57 \% \pm 1,31$ após treze dias de tratamento. Foi observado o aspecto de derme organizada, uma deposição de colágeno melhorada, aumento nas densidades vascular e de fibroblastos em comparação com os grupos de controle (SELLIMI *et al.*, 2018). O fucoidan, um polissacarídeo sulfatado encontrado em espécies de algas marrons, e seu potencial para cicatrização de feridas também é mencionado por possuir propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes que podem auxiliar no processo de cicatrização em estudo de revisão (GHAHTAN *et al.*, 2024).

4.2.1 Ensaio de migração celular

O efeito proliferativo celular observado nos extratos SA, SH, AA e AE foi analisado por meio de um pré-teste de cicatrização de feridas *in vitro*, também conhecido como “ensaio de ranhura” a migração celular foi avaliada em células renais conforme estão apresentadas nas imagens da figura 4-10 abaixo.

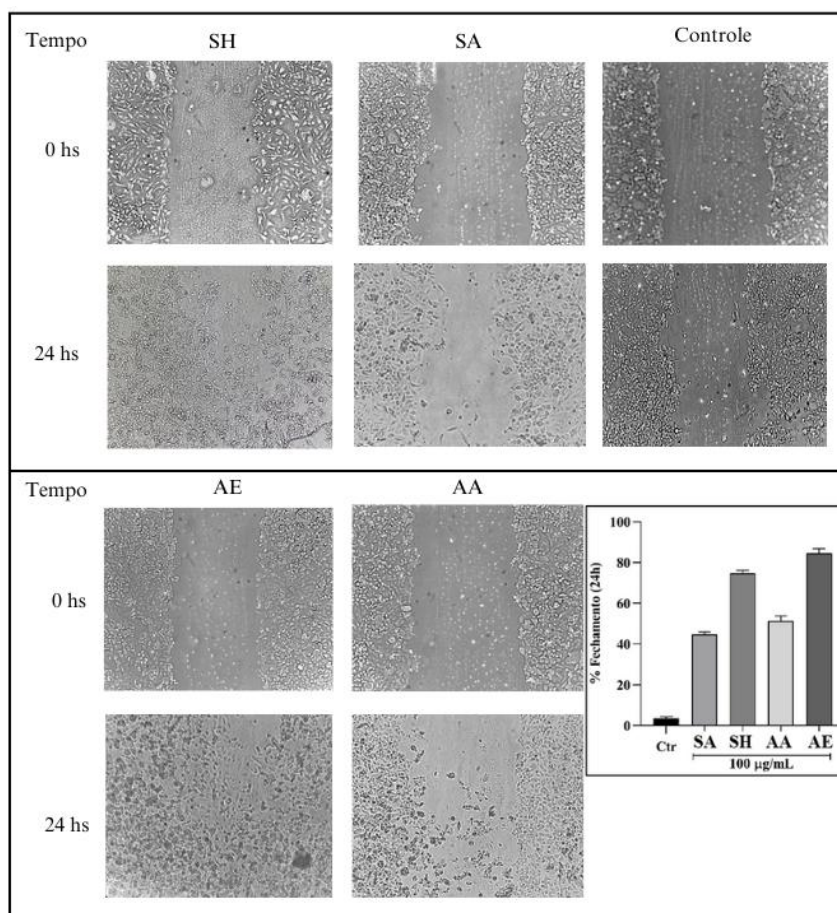


Figura 4-10: Fotomicrografia do efeito dos extratos das algas *S. vulgare* e *A. triquetrum* sobre a migração e proliferação celular

Foi observado antes e em 24 horas de exposição dos extratos com os poços contendo células que ocorreu migração celular por meio do fechamento da área. O fechamento da fenda ocorreu de forma variada para cada extrato, e no grupo de controle, que não contém extrato de alga, o fechamento não ocorreu.

As amostras com maior efeito da migração celular foram os extratos AE da alga *A. triquetrum* e SH da alga *S. vulgare* em que os fechamentos das fendas apresentaram maior densidade celular, correspondendo respectivamente a 84% e 75% de cobertura da área. O extrato AA, a migração celular ocorreu de forma difusa, contendo espaços entre as células e densidade média correspondendo a 51%, enquanto o extrato SA a área coberta correspondeu a 45 %.

Devido a migração celular ser essencial para muitos processos biológicos, este pré-teste será melhor aprofundado correlacionando com quais metabólitos responsáveis pelo o induzimento migratório celular e proliferativo com foco no reparo e regeneração tecidual.

4.3 ANÁLISE DO FILME ELETROFIADO COM EXTRATOS DE ALGAS

Os hidrogéis são candidatos mais promissores para curativos de feridas, não apenas por atenderem aos variados requisitos de curativos, mas também porque podem servir como transportadores de medicamentos. Assim, um pré-teste foi realizado a partir da impressão de filme contendo extrato de alga e o polímero policaprolactona (PCL), teve o propósito de sintetizar uma fibra que simule propriedades semelhantes a curativos e que podem ter aplicação em feridas de difícil cicatrização.

O filme obtido com a matriz formada apresentou aspectos íntegros, ligeiramente com para o tom amarelado e opacas conforme as imagens da figura 4-11(A). O perfil vibracional dos filmes contendo o PCL e extrato/PCL foram avaliados por FTIR conforme apresentados os gráficos da figura 4-11 (B e C) abaixo.

No espectro do filme contendo apenas o PCL, estão presente picos localizados em 2947, 2867, 1723 cm^{-1} que foram atribuídos a estiramentos das ligações -CH e das ligações -C=O (ELZEIN *et al.*, 2004; YEO; JUNG; KIM, 2012; YIN *et al.*, 2015). Estes mesmos estiramentos

também foram observados no espectro do filme extrato/PCL, o que sugerem que a estrutura da matriz polimérica manteve-se preservada após a introdução do extrato.

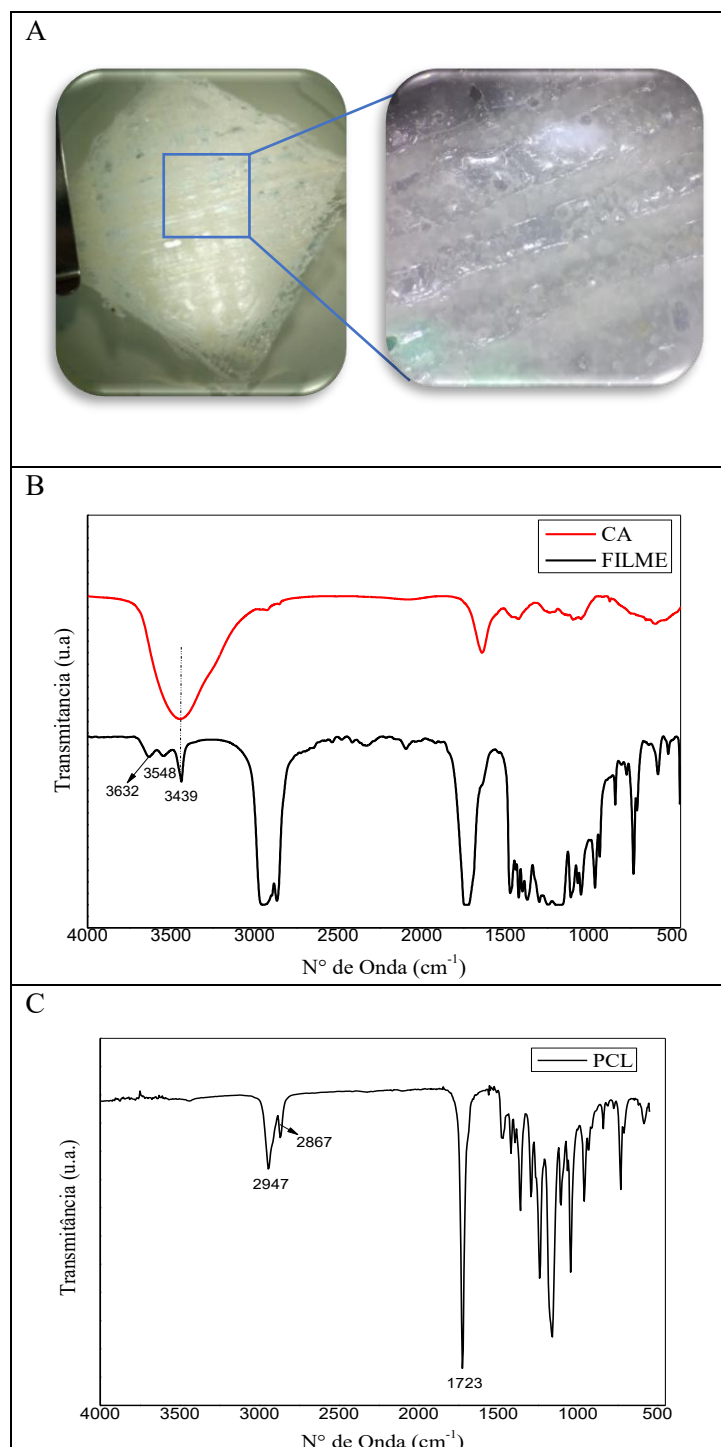


Figura 4-11: Imagens do filme preparados por eletrospiação com o extrato (A) sem aumento da escala com aumento 20x em lente de lupa estereoscópica. Análise de FTIR das matrizes formada sem extrato (B) e com extrato de alga (C).

Também foi observada no filme contendo o extrato, picos em 2632, 3548 e 3439 cm^{-1} referentes a estiramento vibracional de -OH de álcoois, fenóis ou aminas primárias e secundárias que estão presentes no espectro do extrato. Esse resultado sugere que o extrato foi incorporado ao PCL e que pode ser liberado.

O aprofundamento do estudo tanto nos aspectos físico-químico quanto mecânicos da fibra são necessários. O processo de eletrofiação permite a preparação de diferentes matrizes para sistemas de liberação de fármacos baseadas em polímeros naturais e sintéticos, tem sido de grande interesse na área farmacêutica (BATISTA *et al.*, 2020). A incorporação de compostos bioativos presente nos extratos de algas neste filme está em fase de otimização de parâmetros de confecção e caracterização.

4.4 ATIVIDADE INSETICIDA DOS EXTRATOS

Nesta subseção são abordados os resultados publicados nas revistas Biocatalysis and Agricultural Biotechnology e Parasitology International (ver em apêndice B) das atividades inseticidas dos extratos etanólicos SE e AE e extratos hidroalcoólicos AH e CH das algas *S. vulgare*, *A. triquetrum* e *C. racemosa* sobre larva de terceiro instar (L3) de *Ae. aegypti*.

4.4.1 Potencial larvicida da alga *A. triquetrum*

O potencial inseticida da alga *A. triquetrum* sobre larvas de *Ae. aegypti* para os extratos etanólico (AE) e hidroalcoólico (AH) estão demonstrados na tabela 4-5 abaixo. O induzimento tóxico das larvas de *Ae. aegypti* no extrato AE ocorreu a partir do tempo de exposição de 16 horas, apresentando mortalidade larval de 83.33% na concentração de extrato a 3,00 mg mL^{-1} e 98.33 % de mortes larvais na concentração do extrato a 8,00 mg mL^{-1} . Em 24 horas de exposição do extrato, a mortalidade aumentou para uma taxa de 90% a 3,00 mg mL^{-1} e 100% a 8,00 mg mL^{-1} . Estes resultados demonstraram que o extrato etanólico da alga vermelha, apresentou potencial larvicida contra o *Ae aegypti* em todas as concentrações testadas e mantiveram-se significativamente tóxicas nos horários de 16 e 24 horas.

O efeito do induzimento tóxico do extrato AH nas larvas de *Ae. aegypti* para os mesmos tempos de exposição e concentrações testadas, foram de 36.33% de mortalidade na concentração de 3,00 mg mL^{-1} e 73.33% na concentração de 8,00 mg mL^{-1} em 16 horas. Em 24

horas de exposição larval, a mortalidade também aumentou para todas as concentrações testadas, obtendo-se 80% a 3,00 mg mL⁻¹ e 100% a 8,00 mg mL⁻¹ de morte larval. Estes resultados sugeriram que ambos os extratos apresentaram propriedades larvicidas sobre o *Ae aegypti*, possivelmente ao sinergismo dos metabólitos presente nos extratos AE e AH. A maioria das concentrações testadas mantiveram-se significativamente tóxicas no intervalo de tempo observado.

Tabela 4-5: Resultados da mortalidade de larvas de terceiro ínstar de *Ae. aegypti* expostas aos extrato etanólico (AE) e hidroalcoólico (AH) da alga *A. triquetrum*

Concentração (mg mL ⁻¹)	Mortalidade			
	AE		AH	
	16 h	24 h	16 h	24 h
8.00	98,33 ^a	100,00 ^a	73,33 ^a	100,00 ^a
7.00	96,67 ^a	98,33 ^a	55,00 ^{ab}	96,67 ^{ab}
6.00	95,00 ^{ab}	98,33 ^a	49,00 ^{ab}	91,67 ^{abc}
5.00	91,67 ^{ab}	96,67 ^{ab}	30,00 ^{bc}	86,67 ^{bc}
4.00	90,00 ^{ab}	96,67 ^{ab}	49,00 ^{ab}	83,33 ^c
3.00	83,33 ^b	90,00 ^b	36,33 ^b	80,00 ^c
Controle	0,00 ^c	0,00 ^c	0,00 ^c	0,00 ^d

^{a,b,c,d} Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

A concentração letal média (CL₅₀) e concentração letal 90 (CL₉₀) foram avaliadas para os extratos AE e AH e os resultados estão expostos na tabela 4-6 abaixo. Os valores da CL₅₀ a partir do tempo de exposição larval para o indumento tóxico em 16 e 24 horas do extrato AE foram significativamente tóxicas, apresentando CL₅₀ = 1,21 e 1,00 mg mL⁻¹ respectivamente. Os valores de CL₉₀ nos mesmos intervalos de tempo de exposição foram maiores, apresentando CL₉₀ = 4,11 e 2,91 mg mL⁻¹ respectivamente. Para o extrato AH os valores de CL₅₀ nos tempos de exposição larval avaliados foram de CL₅₀ = 5,47 e 1,70 mg mL⁻¹ e CL₉₀ foram 28,00 e 4,83 mg mL⁻¹ respectivamente.

Quando comparados os valores das concentrações letais do extrato AH com os do extrato AE, eles se mostraram um pouco maiores, no entanto, estão em concordâncias com os resultados da mortalidade larval expostos na tabela 4-5. O extrato etanólico possui atividade

larvicida superior em relação ao extrato hidroalcoólico, possivelmente a maior variedade de metabólitos presentes como, ácidos graxos, esteroide, clorofilas, carotenoides, flavonoides, alcaloides e outros. Assim, esses resultados demonstraram que à medida em que o tempo de exposição larval aumenta, as concentrações letais diminuem, sendo o tempo uma variável inversamente proporcional com a concentração para ambos os extratos.

Tabela 4-6: Concentrações letais dos extratos AE e AH da alga *A. triquetrum* em larvas do *Ae. aegypti*

Amostras	Tempo (h)	Concentração Letal (LC) (mg mL ⁻¹)			
		LC ₅₀	Intervalo de Confiança 95%	LC ₉₀	Intervalo de Confiança 95%
AE	16	1,21	0,76 – 1,60	4,11	3,72 – 4,48
	24	1,00	0,53 – 1,42	2,91	2,38 – 3,29
AH	16	5,43	5,03 – 5,89	28,00	20,78 – 48,60
	24	1,70	1,30 – 2,02	4,83	4,52 – 5,20

Embora não existam estudos avaliando o potencial inseticida com a alga *A. triquetrum*, pesquisas com outras espécies e gênero de algas marinhas podem elucidar os resultados encontrados neste estudo. Como o estudo de Kumari *et al.* (2020) avaliou a atividade larvicida de quatro extratos de diferentes solventes (acetona, benzeno, etanol e éter etílico) da alga marinha marrom *Turbinaria conoides* contra larvas de *Culex quinquefasciatus* que foram analisadas e comparadas com estudos anteriores. A mortalidade máxima de 80 % foi observada nos extratos de acetona e benzeno após 24 horas de incubação, enquanto os extratos de etanol e éter etílico mostraram mortalidades de 60 % e 40 % respectivamente em 50 µL de extrato bruto. No entanto, em 50 µL do extrato bruto, esses solventes mostraram diferentes atividades larvicidas devido à diferente concentração do composto extraído no extrato, como 2300 mg L⁻¹ nos extratos de etanol, seguido por 1250 mg L⁻¹ no benzeno, 750 mg L⁻¹ na acetona e a menor concentração de 83 mg L⁻¹ no extrato de éter etílico. Os valores de LC₅₀ para o extrato em éter dietílico apresentou atividade larvicida superior (104 mg L⁻¹) em relação aos extratos em acetona (469 mg L⁻¹), benzeno (781 mg L⁻¹) e etanol (1917 mg L⁻¹) (KUMARI *et al.*, 2020).

Venkatesan *et al.*, (2019) avaliaram a atividade larvicida sobre o *Aedes aegypti* de polissacarídeos solúvel em água de três algas das espécies, *Enteromorpha compressa*, *Gracilaria filiformis* e *Turbinaria conoides*. Os resultados indicaram que todas as algas

marinhas apresentaram atividade larvicida, exibindo taxas de toxicidade nas respectivas concentrações LC_{50} e LC_{90} ($mg\ L^{-1}$) de 0,480 e 34,647 para *E. compressa*, 0,373 e 11,272 para *G. filiformis* e 0,1743 e 16,739 para *T. conoides* (VENKATESAN *et al.*, 2019).

O efeito tóxico do extrato metanólico e suas partições hexânica, clorofórmica e aquosa em três algas marinhas *Bryopsis pennata*, *Sargassum binderi* e *Padina australis* sobre larvas de *Ae. aegypti* foi avaliado por Yu *et al.*, (2015). Os resultados apontaram que a partição clorofórmica do extrato de *B. pennata* exibiu a atividade larvicida mais forte com $LC_{50} = 82,55\ \mu g\ mL^{-1}$, seguida do extrato metanólico com $LC_{50} = 160,07\ \mu g\ mL^{-1}$ e partição clorofórmica de extrato *S. binderi* com $LC_{50} = 192,43\ \mu g\ mL^{-1}$ (YU *et al.*, 2015).

Perumal *et al.*, (2022) avaliaram a toxicidade das algas *S. wightii*, *S. ilicifolium* e *Gelidiella acerosa* em diferentes extratos como, hexano, acetato de etila e metanol contra larvas de quarto-instar (L4) de *Ae. aegypti*. Os resultados revelaram que os extratos de acetato de etila das algas possuem alto potencial de toxicidade contra larvas de mosquitos, exibindo os respectivos valores de concentração letais (LC_{50} e LC_{90}) em $\mu g.mL^{-1}$ de 9,26 e 52,00 para o *S. wightii*, 34,10 e 423,01 *S. ilicifolium* e 23,26 e 354,90 para a *G. acerosa* (PERUMAL *et al.*, 2022).

Considerando a literatura especializada que avaliou o potencial inseticida de diferentes espécies de algas marinhas, os valores de CL encontrados neste estudo são satisfatórios, visto que este é o primeiro estudo a investigar a toxicidade induzida por extratos da espécie *A. triquetrum* contra *Ae. aegypti*, onde a ação larvicida pode possivelmente ser atribuída à sinergia dos metabólitos relatados na Tabela 4-4.

4.4.2 Potencial larvicida das algas *S. vulgare* e *C. racemosa*

O potencial larvicida da alga *S. vulgare* para o extratos SE e da alga *C. racemose* para o extrato CH em 24 e 48 horas de observação são apresentados na tabela 4-7 abaixo.

A toxicidade do extrato SE sobre as larvas do *Ae. aegypti* em 24 horas resultou em cerca de 1.67 % de mortalidade larval a $3,00\ mg\ mL^{-1}$ e atingiu 28.33 % em $8,00\ mg\ mL^{-1}$. Em 48 horas de exposição, a toxicidade induzida aumentou para uma taxa de mortalidade de 51.67% a $3,00\ mg\ mL^{-1}$ e 95% a $8,00\ mg\ mL^{-1}$.

Em 24 horas de exposição larval do extrato CH, as mortalidades observadas foram de 3.33% a $1,50\ mg\ mL^{-1}$ e de 20 % a $3,0\ mg\ mL^{-1}$. A eficácia larvicida aumentou em 48 horas, obtendo-se 15.0 % a $1,50\ mg\ mL^{-1}$ e 50.0 % a $3,00\ mg\ mL^{-1}$ de morte larval. Esses resultados sugerem que o tempo de exposição contribuiu para o aumento da mortalidade em todas as

concentrações testadas e estas mantiveram-se significativamente tóxicas nos horários de 24 e 48 h. Possivelmente a ação larvívica dos extratos deve-se ao sinergismo da composição química dos metabólitos.

Tabela 4-7: Resultados da mortalidade de larvas de terceiro ínstar de *Ae. aegypti* expostas ao extrato SE da alga *S. vulgare* e ao extrato CH da alga *C. racemosa*.

Mortalidade					
Concentração (mg mL ⁻¹)	SE		Concentração (mg mL ⁻¹)	CH	
	24 hs	48 hs		24 hs	48 hs
8,00	28.33 ^a	95.00 ^a	3,00	20.00 ^a	50.00 ^a
7,00	23.33 ^{ab}	95.00 ^a	2,50	11.67 ^{ab}	50.00 ^a
6,00	8.33 ^{ab}	91.67 ^a	2,00	10.00 ^{ab}	48.33 ^a
5,00	10.00 ^{ab}	86.67 ^a	1,50	3.33 ^b	15.00 ^b
4,00	6.67 ^{ab}	81.67 ^{ab}	1,00	0.00 ^b	6.67 ^b
3,00	1.67 ^b	51.67 ^b	0,50	0.00 ^b	0.00 ^b
Controle	0.00 ^b	0.00 ^c	Controle	0.00 ^b	0.00 ^b

^{a,b,c} Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

A concentração letal média (CL₅₀) e concentração letal 90 (LC₉₀) foram avaliadas para os extratos SE e CH e os resultados estão expostos na tabela 4-9.

No tempo de exposição larval de 24 e 48 h do extrato SE foram obtidos valores de CL₅₀ foram significativamente tóxicas nas concentrações de 12,10 e 2,69 mg mL⁻¹ e de CL₉₀ nas concentrações de 28,52 e 5,67 mg mL⁻¹ respectivamente. Para o extrato CH as concentrações letais nos mesmos intervalos tempos de exposição larval para o induzimento tóxico apresentaram os valores de CL₅₀ de 6,23 e 2,58 mg mL⁻¹ e de CL₉₀ de 16,72 e 6,46 mg mL⁻¹ respectivamente.

Esses valores das CL₅₀ e CL₉₀ dos extratos SE e CH estão em concordâncias com os resultados da mortalidade larval exposto na tabela 4-8, pois demonstraram que a medida em que o tempo de exposição larval aumenta, a concentração letal é reduzida, sendo o tempo uma variável inversamente proporcional com a concentração para ambos os extratos. O extrato SE demonstrou ser mais eficaz como larvívica do que o extrato CH, embora seja difícil atribuir a causa exata por se tratarem de gêneros de algas marinha diferentes, no entanto, o extrato

etanólico de *S. vulgare* apresentou uma composição química com mais variedades de metabólitos primários e secundários como, flavonoides, terpenoides, alcaloides, álcool graxo e outros em relação ao extrato CH da *C. racemosa*.

Tabela 4-8: Concentrações letais do extrato SE da Alga *S. vulgare* e do extrato CH da alga *C. racemosa* em larvas do *Ae. aegypti* no tempo de exposição de 24 e 48 horas.

Amostra	Tempo (h)	Concentração Letal (LC) (mg. mL ⁻¹)			
		LC ₅₀	Intervalo de Confiança 95%	LC ₉₀	Intervalo de Confiança 95%
SE	24	12,10	10.72 - 14.39	28,52	22.15 - 41.23
	48	2,69	2.46 - 2.90	5,67	5.39 - 6.01
CH	24	6,23	5.02 - 8.92	16,72	11.07 - 33.43
	48	2,58	2.44 - 2.75	6,46	5.55 - 7.86

Embora sejam escassos os trabalhos que abordam o potencial inseticida com as espécies de algas marinhas *S. vulgare* e *C. racemose* como larvicidas natural sobre o *Ae. aegypti* e outros vetores de arboviroses, outras espécies dos gêneros *Sargassum* e *Caulerpa* foram investigadas anteriormente. O extrato etanólico de *Sargassum wightii* avaliado por Suganya et al., (2019) exibiu atividade inseticida em larvas de 3º instar de *An. stephensi*, *Ae. aegypti* e *Culex tritaeniorhynchus*. Os valores de LC₅₀ foram inferiores a 50 ppm contra todas as espécies testadas após 24 horas de exposição (SUGANYA et al., 2019). A toxicidade do extrato de *Sargassum muticum* em larvas de 4º instar de *Ae. aegypti* foi avaliada por Trivedi et al., (2021). O extrato aquoso após 24 horas de exposição larval, exibiu valores de LC₅₀ = 110,39 µg mL⁻¹ e L₉₀ = 184,99 µg mL⁻¹ (TRIVEDI et al., 2021).

No estudo de Achary et al., (2014), o potencial contra *Ae. aegypti* da alga *S. wightii* foi analisado a partir dos extratos brutos utilizando três solventes (éter etílico, metanol e acetona). Os resultados mostraram que efeitos larvicidas ocorrem após 24, 48 e 72 horas de exposição. A maior mortalidade foi registrada a 350 ppm para todos os estágios larvais, com o extrato de metanol seguindo o de acetona e éter etílico. Os valores de LC₅₀ e LC₉₀ diminuíram gradualmente com os períodos de exposição, tendo o valor mais baixo após 72 horas de exposição em larvas de terceiro instar, seguidas pelas de segundo e quarto instar (ACHARY; MUTHALAGU; GURU, 2014).

Vinoth *et al.*, (2019), sintetizaram nanopartículas de prata com extrato da alga *Sargassum polycystum* e avaliaram a atividade larvicida em *Ae. aegypti* e outros vetores de arboviroses. Após 24 horas de tratamento, ocorreu 60% de morte larval de *Ae. aegypti*, obtendo-se valor de LC_{50} de $0,30 \mu\text{g mL}^{-1}$. As maiores taxas de mortalidade foram de 80% e 90% a 5 ppm após 48 e 72 horas de tratamento, e apresentou valores de CL_{50} de $0,06 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $0,03 \mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente. Os valores de CL_{90} obtidos foram 85,81, 12,74 e $1,98 \mu\text{g mL}^{-1}$ respectivamente em 24, 48 e 72 horas de tratamento (VINOOTH *et al.*, 2019).

Alarif *et al.*, (2010) investigaram a atividade larvicida dos metabólitos isolados da *C. racemose* sobre larvas de 3º instar da espécie *Culex pipiens*. Os resultados mostraram -se eficazes nos tempos de exposição de 24 e 48 horas, obtendo-se valores de LC_{50} de 1,81 e 1,09 ppm e L_{90} de 5,71 e 2,96 ppm para caulerpina e LC_{50} de 3,90 e 2,94 ppm e LC_{90} 13,07 e 6,54 ppm para o ácido caulerpínico (ALARIF *et al.*, 2010). Outro estudo com *C. racemosa* de Nagaraj e Osborne, (2014) avaliou a atividade larvicida do extrato metanólico em larvas de 4º instar do mosquito *Cx. tritaeniorhynchus* e após 24 horas de exposição, apresentou valor de LC_{50} de $63,324 \text{ mg mL}^{-1}$ (NAGARAJ; OSBORNE, 2014).

Al Yahya *et al.*, (2023) avaliaram a potencial toxicidade de três espécies de algas, *C. racemosa*, *Padina boryana* e *Turbinaria ornata* em larvas do *Ae. aegypti*. Os resultados mostraram que *C. racemosa* apresentou a maior eficácia larvicida com uma $CL_{50} = 43,5$ ppm, seguida por *P. boryana* com uma $CL_{50} = 51,93$ ppm. Ambas as espécies provaram ser excelentes candidatas como fonte de agentes larvicidas e poderiam ser usadas comercialmente em programas de controle de mosquitos como biopesticidas ecológicos (AL YAHYA; SHAHER; MAHYOUB, 2023).

Os extratos de algas marinhas de *Ulva lactuca*, *C. racemosa*, *Sargassum microcystum*, *Caulerpa scalpelliformis*, *Gracilaria corticata*, *Turbinaria decurrens*, *Turbinaria conoides* e *Caulerpa toxifolia* foram avaliadas a atividade larvicida contra *An. stephensi*, *Ae. aegypti* e *Cx. quinquefasciatus* por Ali *et al.*, (2013). Os resultados mostraram que entre os extratos avaliados, a alga *C. racemosa* apresentou toxicidade contra as larvas de 4º estágio de *Ae. aegypti*, *Cx. quinquefasciatus*, *An. stephensi* com valores equivalentes de LC_{50} ($0,0556 \pm 0,010$) $\mu\text{g mL}^{-1}$, ($0,0675 \pm 0,136$) $\mu\text{g mL}^{-1}$ e ($0,066 \pm 0,007$) $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente (ALI; RAVIKUMAR; BEULA, 2013).

Outro estudo de Adaikala Raj *et al.*, (2017) avaliou as atividades larvicidas dos extratos de *Halimeda macroloba*, *Caulerpa racemosa* e *Ulva lactuca* contra *Ae. aegypti*. A mortalidade foi observada em 24 e 48 horas, e os resultados demonstraram que todos os extratos

apresentaram níveis variados de atividade larvicida, sendo a eficácia máxima foi observada no extrato de acetato de etila de *C. racemosa* ($LC_{50}=579,9$ e $LC_{90}=1255,4$ ppm em 24 horas e $LC_{50}=495,4$ e $LC_{90}=1073,9$ ppm em 48 horas) seguido por *U. lactuca* ($LC_{50}=588,1$ e $LC_{90}=1290,7$ ppm em 24 horas e $LC_{50}=530,8$ e $LC_{90}=1160,0$ ppm em 48 horas respectivamente) (ADAIKALA RAJ *et al.*, 2017).

Diante dos resultados expostos, a atividade inseticida das algas *S. vulgare* e *C. racemosa* sugere que ambos os extratos possuem atividade larvicida sobre *Ae. aegypti* após 24 horas de induzimento toxico, sugerindo uma ação inseticida lenta e possivelmente se deve ao sinergismo dos seus conteúdos metabólitos como fenol, alcaloide, terpenóides, ácidos graxos, monossacarídeos, derivados clorofilados e outros. Além de terem potencial capacidade inseticida natural com toxicidade limitada apenas ao vetor, pois não apresentaram toxicidade em células humanas.

4.5 ANÁLISE MORFOLÓGICAS DAS LARVAS DE *AE. AEGYPTI*

Nesta subseção são abordados os resultados dos efeitos tóxicos dos extratos das algas marinhas estudadas. Foram investigadas quais as alterações no induzimento tóxico dos extratos AE, AA, SE e CH podem ter provocado nas larvas de 3º ínstar de *Ae. aegypti*. Por meio da análise da morfologia dos segmentos da região da cabeça e tórax (I), abdome (II) brânquias anais e sifão (III) e pela comparação com as larvas dos grupos de controles negativo (em meio aquoso) e positivo (meio aquoso contendo temefós®) foi possível estimar tais alterações, conforme mostram as imagens da figura 4-12.

Nas imagens da figura 4-12 (A e B) são observadas que as larvas controles apresentaram morfologias regulares (vermiforme), com os três segmentos preservados, enquanto as imagens das larvas expostas aos extratos das algas apresentam alterações. A figura 4-12 (C e D) mostra as larvas expostas aos extratos da alga *A. triquetrum* que embora apresentaram morfologias vermiforme, as alterações na cor para o amarelo, perda de cílios nas regiões da cabeça e tórax são observadas.

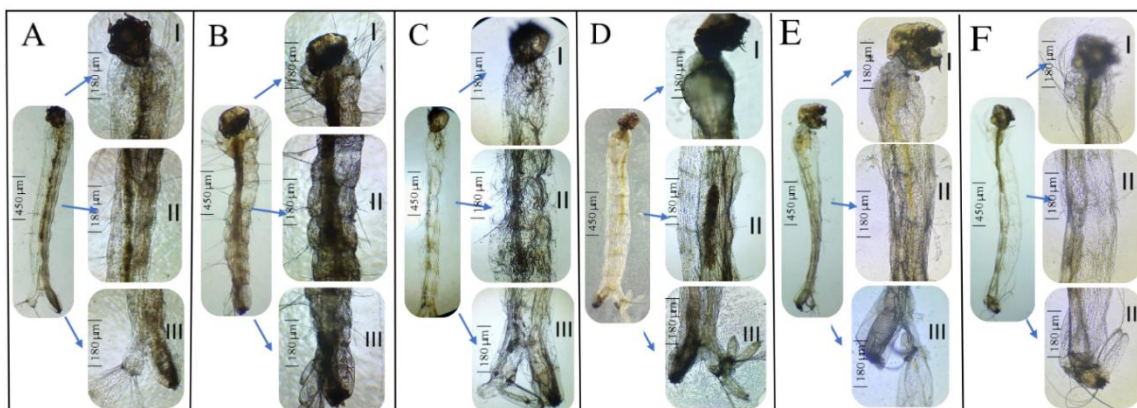


Figura 4-12: Imagens das larvas L3 de *Ae. aegypti* dos grupos (A) controle negativo, (B) positivo e exposta aos extratos (C) AE e (D) AH da alga *A. triquetrum*, (E) SE da alga *S. vulgare* e (F) CH da alga *C. racemosa*. Com detalhes de segmentos da cabeça e tórax (I), abdome (II) e das brânquias anais e sifão (III).

O extrato AH provocou alterações na região do abdome, como o rompimento do intestino médio, e o extrato AE provocou alterações na região das brânquias anais e sifão, a perda dos folíolos brânquias que são responsáveis pela regulação da pressão osmótica, além da extrusão parcial do intestino, completamente revestida pela membrana peritrófica. Foram observadas nos extratos das algas *S. vulgare* e *C. racemosa*, alterações semelhantes nas larvas expostas aos extratos da alga *A. triquetrum* como, perdas das cerdas, que desempenham a função sensorial e flutuação, perdas de folíolos branquiais na região das brânquias anais e sifão como mostram a figura 4-12 (E e F). Estes segmentos podem ter sido comprometidos pelos efeitos tóxicos dos extratos.

Ainda são escassos os trabalhos com extratos de algas marinhas que investigaram as alterações morfológicas após o induzimento tóxico dos compostos químicos extraídos em larvas de *Ae. aegypti*, no entanto, é possível encontrar alguns estudos que observaram resultados semelhante aos encontrados neste estudo. Suganya *et al.*, (2019) investigou a atividade larvicida de extrato etanólico da alga *S. wightii* em larvas de *An. stephensi*, *Ae. aegypti* e *C. tritaeniorhynchus*. Os resultados da morfologia externa das larvas indicaram que o extrato provocou danos em segmentos como, papilas anais, responsável pela regulação iônica das larvas no sistema osmorregulador, nos espiráculos ou um sifão, região relacionada ao sistema respiratório, além do encolhimento das células do epitélio do intestino médio o que pode ter contribuído para a morte das larvas (SUGANYA *et al.*, 2019).

O trabalho realizado por Deepak *et al.*, (2019) demonstrou a atividade larvícida de extratos bruto metanólico e de partições de fitoquímicos da alga *Halymenia palmata* em *Ae. aegypti*. Os resultados da análise da morfologia externa das larvas tratadas com as frações particionadas alga provocaram alterações na morfologia das larvas, apresentaram danos em segmentos como, papilas anais, válvulas espiraculares do sistema traqueal do sifão respiratório, além de palidez na cor (DEEPAK *et al.*, 2019).

Yu *et al.*, (2015) também investigaram os danos morfológicos induzidos pelos extratos e derivados das algas marinhas *Bryopsis pennata*, *Sargassum binderi* e *Padina australis* em *Ae. aegypti*. Os resultados da observação morfológica revelaram danos semelhantes aos encontrados neste estudo, como deformidades nas papilas anais e nos espiráculos terminais das larvas (YU *et al.*, 2015).

No estudo de Gil *et al.*, (2021), com a espécie *Neochloris aquática* contra *Cx. quinquefasciatus* foi avaliado o potencial agente de controle biológico dessa microalga. Os resultados da análise morfológica mostraram efeitos drásticos nas larvas como as alterações abdominais e torácicas, rupturas no intestino e diminuição do corpo gorduroso além de alterações na continuidade e bloqueio intestinal em relação às larvas controle que apresentaram tórax e segmentos abdominais com aparência normal (GIL *et al.*, 2021).

Um outro estudo de Perumal *et al.*, (2022) avaliou o potencial de toxicidade dos extratos de extratos de algas marrons sobre larvas de *An. stephensi*, *Cx. quinquefasciatus*, e *Ae. aegypti* e os resultados da morfologia externa das larvas demonstraram que os extratos de algas que provocaram a mortalidade das larvas provocaram alterações no intestino médio que foi gravemente comprometido e esse resultado também foi confirmado por análise histológica (PERUMAL *et al.*, 2022).

Resultados semelhantes também foram reportados no estudo de Souza *et al.*, (2020) em espécie de plantas terrestre com a curcumina em que as mudanças na morfologia das larvas de *Ae. aegypti* quando exposta a curcumina na presença de sacarose e D-manitol provocou a extrusão parcial do conteúdo do intestino das larvas, que é um indicativo dos primeiros sinais de toxicidade, e que seria a primeira abordagem dos mecanismos de defesa das larvas (SOUZA *et al.*, 2020). Para melhor compreensão dos resultados observados neste estudo, a discussão foi limitada apenas a pesquisas com algas, por se tratarem de organismos que estão sujeitos aos mesmos tipo de intemperismo e condições de stress oxidativo que resultam na produção de componentes bioativos semelhantes.

4.6 ENSAIOS ENZIMÁTICOS

Nesta subseção são apresentados os resultados do mecanismo de ação da atividade larvícida dos extratos das algas estudadas em que foi avaliada a atividade das enzimas amilase, tripsina e acetilcolinesterase do intestino das larvas *Ae. aegypti* (L3) após o induzimento tóxico com os extratos AE, AA, SE e CH, apresentados nas figuras 4-13, 4-14 e 4-15.

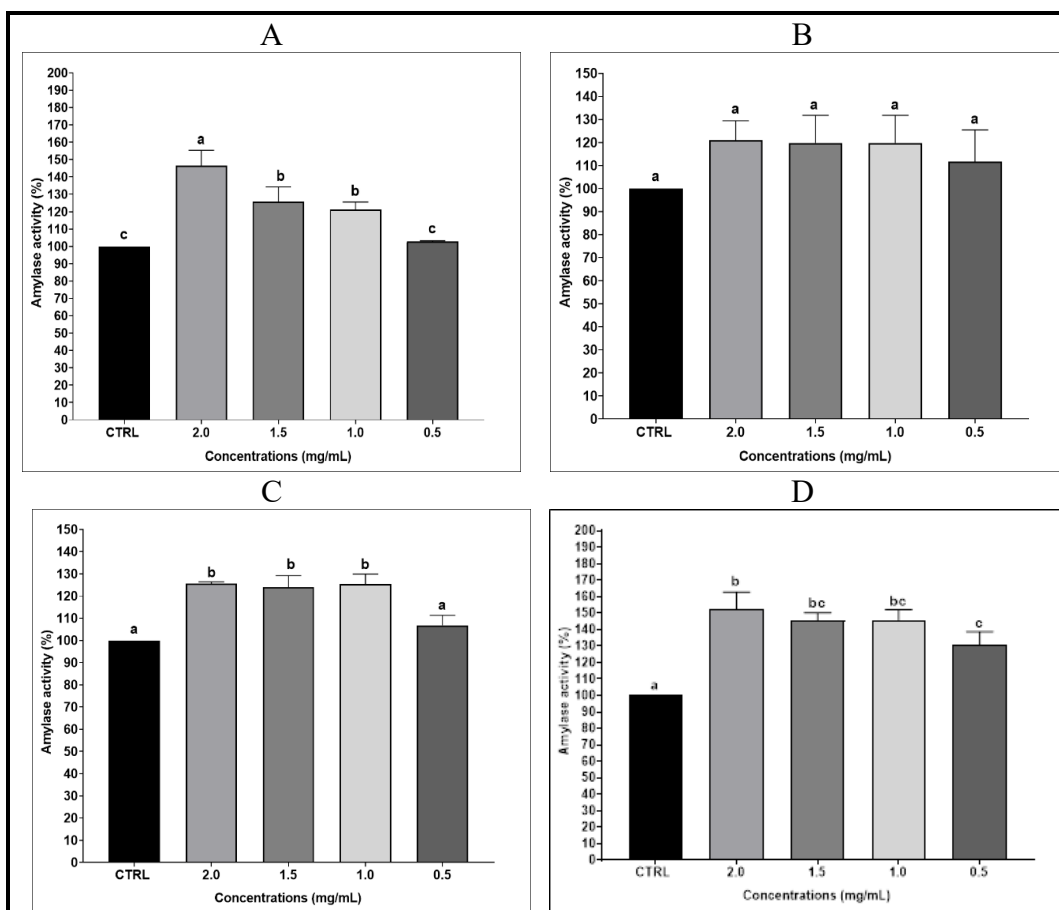


Figura 4-13: Efeito da ação da enzimática dos extratos (A)AE, (B) AH, (C) SE e (D) CH nas atividades da α -amilase sobre *Ae. aegypti* (L3)

Os gráficos da atividade da α -amilase *in vitro* indicaram que todos os extratos promoveram efeitos semelhantes no metabolismo da enzima, ou seja, os extratos estimularam a atividade da α -amilase em todos os intervalos das concentrações testadas em relação ao grupo de controle (que não contém extrato). Esses resultados sugeriram que o mecanismo de ação dos extratos das algas pode ocorrer por meio da estimulação do metabolismo da α -amilase.

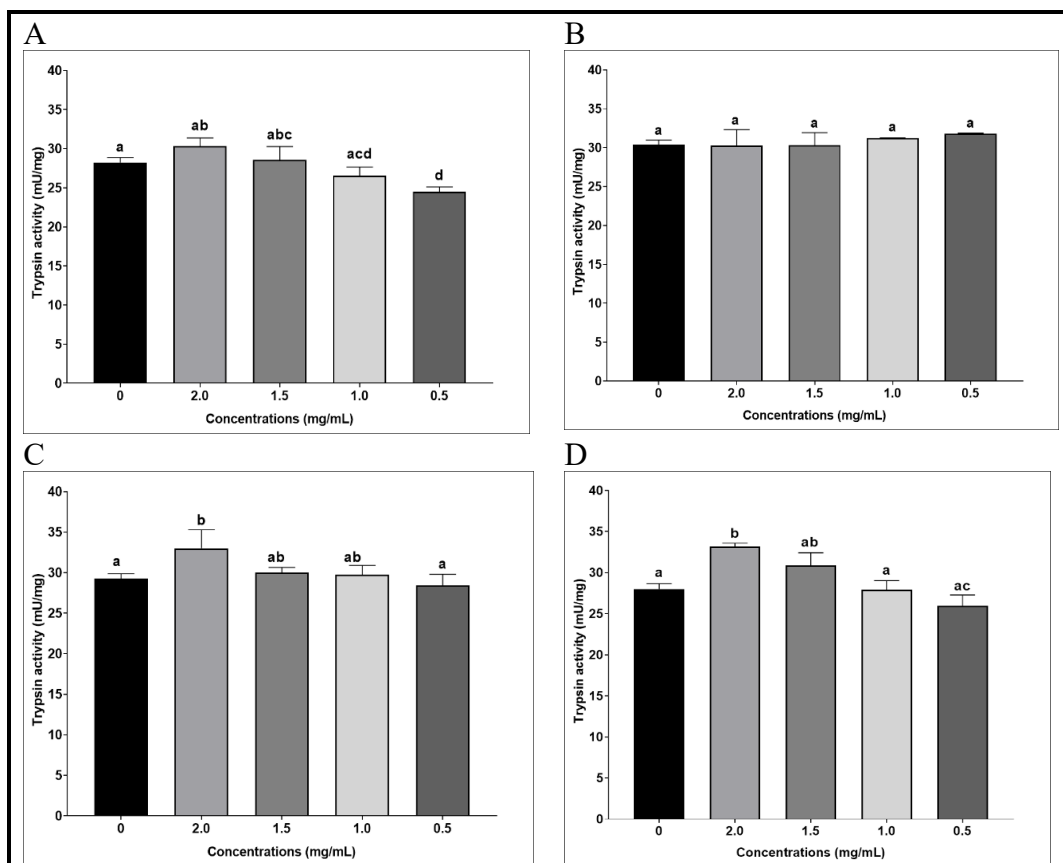


Figura 4-14: Efeito da ação da enzimática dos extratos (A)AE, (B) AH, (C) SE e (D) CH nas atividades da tripsina sobre *Ae. aegypti* (L3)

Os gráficos da atividade da tripsina *in vitro* indicaram que a maioria dos extratos promoveram efeitos semelhantes no metabolismo da enzima, ou seja, os extratos AE, SE e CH estimularam a atividade da enzima a partir da concentração de $1,5 \text{ mg mL}^{-1}$, mantendo atividade acima em relação ao grupo controle. O extrato AH não promoveu nem o estímulo e nem a inibição da atividade da tripsina, mantendo atividade semelhante ao controle em todas as concentrações testadas. Esses resultados sugerem que o mecanismo de ação dos extratos AE, SE e CH podem ocorrer por meio da estimulação metabólica da tripsina, enquanto o mecanismo de ação do extrato AH não foi bem esclarecido para esta enzima.

A atividade da acetilcolinesterase *in vitro* indicou que os extratos promoveram efeitos semelhantes ao da α -amilase e tripsina no metabolismo da enzima, ou seja, os extratos estimularam a atividade da AChE em quase todas as concentrações testada e a atividade mantiveram-se acima quando comparada com o controle. Esses resultados sugerem que o mecanismo de ação dos extratos pode ocorrer por meio da estimulação metabólica da enzima.

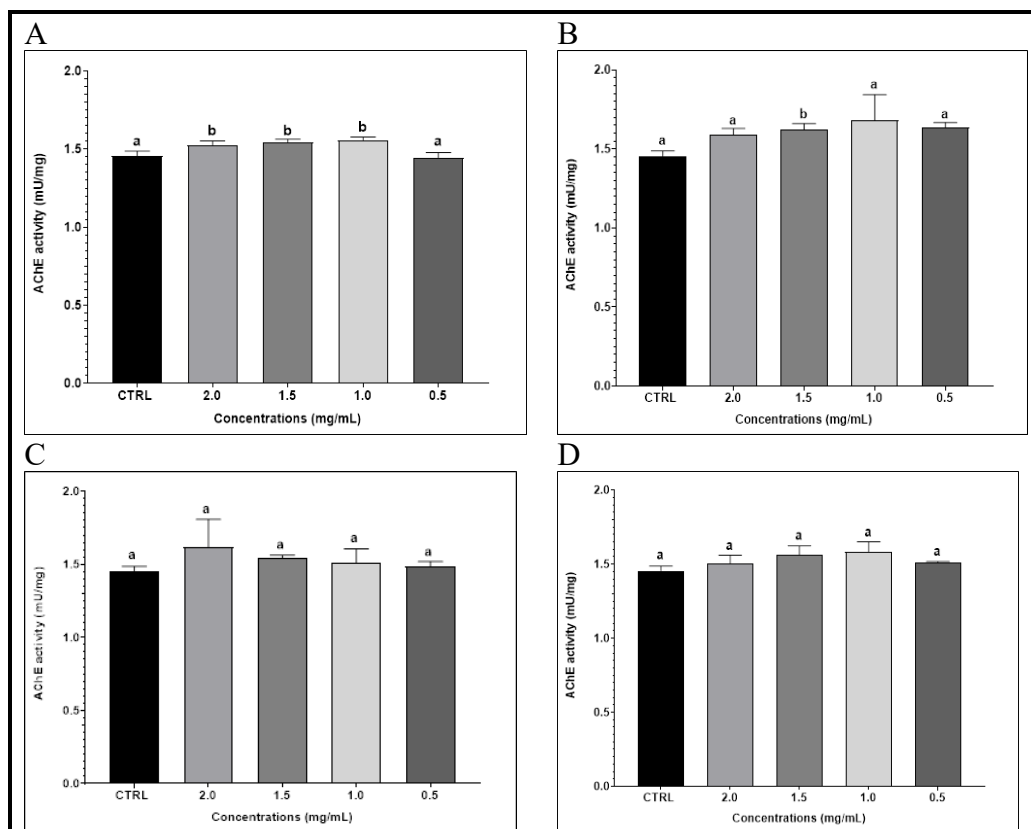


Figura 4-15: Efeito da ação da enzimática dos extratos (A)AE, (B) AH, (C) SE e (D) CH nas atividades da AChE sobre *Ae. aegypti* (L3)

Embora seja escassos pesquisas com algas marinhas avaliando o modo da ação de inseticida em artrópode, o trabalho de Lorensi *et al.*, (2019) com extrato e metabólitos da alga *Prasiola cristan* abordou a atividade inseticida em baratas da espécie *Nauphoeta cinérea*. O mecanismo de ação dos extratos e compostos isolados não revelaram nenhuma atividade da acetilcolinesterase. Entretanto, afetaram a função neuromuscular do inseto induzindo uma inibição completa da tensão de contração muscular das pernas e alterações comportamentais como o aumento ou diminuição da atividade de limpeza da barata (LORENSI *et al.*, 2019).

O mecanismo de ação inseticida dos extratos brutos e frações de taninos das algas marrom, *S. wightii*, *S. polypodioides* e *Turbinaria ornata*, sobre a espécie *Amrasca devastan* mostrou uma redução significativa da atividade da amilase, protease e invertase quando tratado com tanino bruto (PETCHIDURAI *et al.*, 2023).

São mais frequentes os trabalhos avaliando o mecanismo de ação em larvas de *Ae. aegypti* de metabólitos oriundos de plantas terrestres, quando comparado às algas marinhas, e em sua maioria, os bioativos provocam a inibição de atividade enzimática. Entretanto, também

é possível encontrar literaturas em que os metabólitos de plantas provocaram o estímulo da atividade enzimática. Agra-Neto *et al.*, (2014) os efeitos das lectinas da *Moringa oleifera* nas atividades enzimáticas de larvas de *Ae. aegyptis* resistente a organofosforados e *Rockefeller* revelaram que a lectina solúvel em água possui o mecanismo de atividade larvicida possivelmente envolvendo a estimulação de enzimas digestivas da protease, tripsina e α -amilase sobre as das larvas *Rockefeller* (AGRA-NETO *et al.*, 2014).

O estudo Macedo *et al.*, (2007), o mecanismo de ação da lectina inseticida isolada da folha de *Bauhinia monandra* na espécie *Callosobruchus maculatus* foi estimulatório na atividade da α -amilase. O estímulo da ação enzimática pode ocorrer pelo aumento da afinidade da enzima com seu substrato e resultarem em desequilíbrio metabólico, comprometimento do crescimento e indução de mortalidade de larvas de insetos (MACEDO *et al.*, 2007; NAPOLEÃO *et al.*, 2012).

4.7 ENCAPSULAMENTO DO EXTRATO

O encapsulamento do extrato de algas permite prolongar o período de tempo da atividade larvicida enquanto as substâncias ativas são liberadas gradualmente. Portanto, dando continuidade ao estudo da atividade larvicida, foi encapsulado o extrato que apresentou 100% de mortalidade em 24 horas, e $LC_{90} = 2.91 \text{ mg mL}^{-1}$ tendo como material parede das cápsulas, alginato de sódio e os resultados apresentados na figura 4-16.

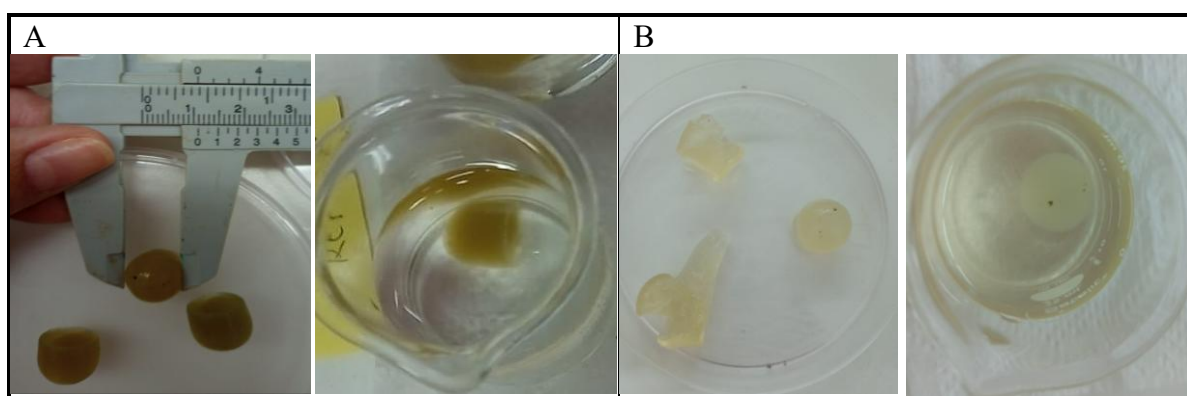


Figura 4-16: Encapsulamento do extrato AE, (A) imagens das cápsulas antes da liberação e (C) e (B) após a liberação do extrato a 2% de alginato.

As capsulas de hidrogel que apresentaram o formato estável e tamanhos médio de 0,8 cm, foram a 2 e 4% de alginato de sódio. Avaliando-se os aspectos qualitativos das cápsulas, estas perderam a pigmentação em 24 horas no recipiente contendo água. Também se observou que o meio aquoso adquiriu a coloração, e houve de algumas rompimento das capsulas a 2% de polímero. Essa última observação pode ser atribuída a pressão externa do meio aplicada aos reservatórios encapsulados que provocou a ruptura da estrutura. Não ocorreu o rompimento das cápsulas a 4% de alginato, sugerindo que nesta concentração, a estrutura das cápsulas tornaram-se mais rígida e resistente a pressão externa do meio.

Quanto aos aspectos quantitativos da liberação observado nos graficos da figura 4-17, houve o aumento progressivo das absorbâncias do extrato liberado nas capsula com 2% de alginato até 48 horas, porem a liberação maxima foi alcançada em 24 horas com concentração de $1,129 \pm 0,27 \text{ mg mL}^{-1}$ equivalente a uma taxa de 39 % de liberação. Após 24 horas, a liberação diminui para taxas entre 27 % e 32 % em 36 horas e 48 horas respectivamente.

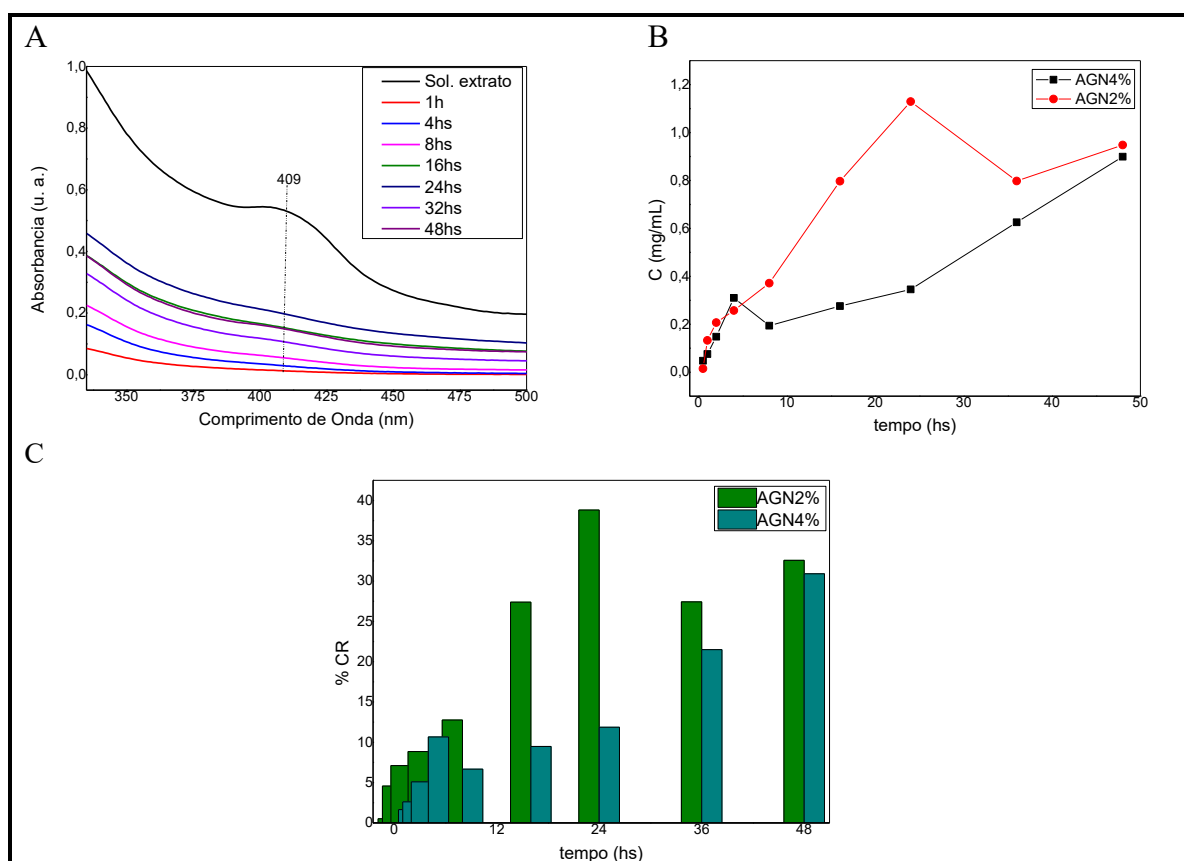


Figura 4-18: (A) absorbância do extrato liberado em 48 horas a 2% de alginato, (B) concentração do extrato liberado no meio pelas cápsulas com 2 e 4% de alginato (C) porcentagem de liberação cumulativa das capsulas com 2 e 4% de alginato.

As capsulas com 4% de alginato, a liberação máxima ocorreu em 48 horas com concentração do extrato no meio de $0,9 \pm 0,01 \text{ mg mL}^{-1}$ que corresponde a uma taxa de 31%. Essa liberação foi menor em relação as cápsulas com 2% de alginato, no entanto, ambas mostraram um padrão de uma liberação lenta e sustentada, comum a esperada para uso em fármacos. Entretanto, para o uso inseticida espera-se um padrão de liberação com uma alta taxa de liberação nas primeiras horas de liberação.

Assim, as taxas de liberação das cápsulas testadas não foram satisfatórias por serem inferiores ao valor da LC_{90} (concentração das cápsulas), e grande parte do conteúdo ativo permaneceu encapsulado. Esses resultados também foram evidenciados no pré-teste de liberação *in vivo* em que quase não houve mortalidade larval nos mesmos intervalos de tempo avaliados. Esses resultados sugerem novos reajustes na metodologia de encapsulamento e em parâmetros como, proporção do polímero em relação ao extrato, o pH meio, tempo de reticulação, caracterização da morfologia das cápsulas.

5 CONCLUSÕES

Os achados nesse estudo confirmam que as macroalgas do litoral pernambucano, *Sargassum vulgare*, *Alsidium triquetrum* e *Caulerpa racemosa*, apresentam atividades biológicas bem diversificadas como atividade inseticida e efeito proliferativo celular. Os maiores rendimentos da extração foram os extratos SE com 65.3% para a alga marrom, AA com 42% para alga vermelha e CH com 37% da alga verde. Os extratos das algas apresentaram metabólitos bem diversificados como clorofila, aminoácidos, ácidos graxos, flavonoides, carotenoides, vitamina, alcaloide, esteroide e outros, confirmados por análise cromatográfica de LCMS e que está em concordância com análises anteriores espectrofotométricas, de complexação de alumínio, de UV-vis e infravermelho. O potencial larvicida dos extratos AE, AH, alcançaram 100% de mortalidade em 24 horas bem como, os extratos SA e CH apresentaram 95 e 50% de mortalidade em 48 horas contra o *Aedes aegypti* e a atividade larvicida pode estar relacionada com sinergismo dos metabólitos dos extratos. Foi observado que o induzimento tóxico dos extratos provocou alterações significativas na morfologia das larvas, e pode ter relação com o estímulo das atividades enzimáticas no intestino das larvas. A citotoxicidade *in vitro* dos extratos indicou viabilidade de 100% para as células renais, demonstrando que os extratos com ação inseticida são biocompatíveis. Os testes preliminares de encapsulamento do extrato AE indicou que 2% de alginato pode-se obter cápsulas com forma estável com liberação até 39% do extrato no meio. O teste de cicatrização *in vitro* de ranhura confirmou o efeito proliferativo celular observado nas amostras SA, SH, AA e AE, pelo o fechamento da fenda e essa característica pode estar relacionada com a composição química dos extratos. O filme eletrofiado contendo extrato/PCL apresentou aspectos íntegros e estiramentos vibracionais presentes tanto no polímero quanto no extrato isolados, sugerindo a incorporação do extrato ao PCL.

6 REFERÊNCIAS

ABDALA-DÍAZ, R. T. *et al.* Daily and seasonal variations of optimum quantum yield and phenolic compounds in *Cystoseira tamariscifolia* (Phaeophyta). **Marine Biology**, v. 148, n. 3, p. 459–465, 2006. Disponível em:< <http://doi.org/10.1007/s00227-005-0102-6>>

ABDEL HALEEM, D. R. *et al.* Screening and evaluation of different algal extracts and prospects for controlling the disease vector mosquito *Culex pipiens*. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 29, n. 2, p. 933–940, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.10.009>>.

ABDELRHEEM, D. A. *et al.* Bis-indole alkaloid caulerpin from a new source *Sargassum platycarpum*: isolation, characterization, *in vitro* anticancer activity, binding with nucleobases by DFT calculations and MD simulation. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, v. 39, n. 14, p. 5137–5147, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1784285>>.

ABU AHMED, S. *et al.* Qualitative and quantitative phytochemical composition of *Sargassum vulgare* at Hurghada red sea coast - egypt. **Scientific Journal for Damietta Faculty of Science**, v. 11, n. 1, p. 10–19, 2021. Disponível em:< <https://doi.org/10.21608/sjdfs.2021.195585>>

ACHARY, A.; MUTHALAGU, K.; GURU, M. S. Identification of phytochemicals from *Sargassum wightii* against *Aedes aegypti*. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, v. 29, n. 1, p. 314–319, 2014. Disponível em:< <https://www.researchgate.net/publication/282605312>>.

ADAIKALA RAJ, G. *et al.* Screening of different extracts of marine macro green algae for larvicidal activity against dengue fever mosquito, *Aedes aegypti* (Diptera: Culiadae). **International Letters of Natural Sciences**, v. 62, p. 44–51, 2017. Disponível em:< <https://doi.org/10.18052/www.scipress.com/ILNS.62.44>>.

AGRA-NETO, A. C. *et al.* Effect of *Moringa oleifera* lectins on survival and enzyme activities of *Aedes aegypti* larvae susceptible and resistant to organophosphate. **Parasitology Research**, v. 113, n. 1, p. 175–184, 2014. Disponível em:< <https://doi.org/10.1007/s00436-013-3640-8>>.

AKKOL, E. K. *et al.* Coumarins and coumarin-related compounds in pharmacotherapy of cancer. **Cancers**, v. 12, n. 7, p. 1–25, 2020. Disponível em:<

<https://doi.org/10.3390/cancers12071959>>

ALARIF, W. M. *et al.* Insecticidal metabolites from the green alga *Caulerpa racemosa*. **Clean - Soil, Air, Water**, v. 38, n. 5–6, p. 548–557, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/clen.201000033>>.

AL-ENAZI, N. M. *et al.* Antimicrobial, antioxidant and anticancer activities of *Laurencia catarinensis*, *Laurencia majuscula* and *Padina pavonica* extracts. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 26, n. 1, p. 44–52, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jsps.2017.11.001>>.

ALE, M. T.; MIKKELSEN, J. D.; MEYER, A. S. Designed optimization of a single-step extraction of fucose-containing sulfated polysaccharides from *Sargassum sp.* **Journal of Applied Phycology**, v. 24, p. 715–723, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10811-011-9690-3>>.

ALGHAZEER, R. *et al.* Alkaloids rich extracts from brown algae against multidrug-resistant bacteria by distinctive mode of action. **Arabian Journal for Science and Engineering**, v. 47, n. 1, p. 179–188, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s13369-021-05592-w>>.

Humaid A. A review of biological activities of genus *Sargassum*. **Annals of Clinical and Medical Case Reports Review**. v. 9, n. 10, p. 1–20, 2022. Disponível em: <<http://www.acmcasereport.com/>>.

ALI, M. Y. S.; RAVIKUMAR, S.; BEULA, J. M. Mosquito larvicidal activity of seaweed extracts against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**. v. 3, n. 3, p. 196–201, 2013. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(13\)60040-7](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(13)60040-7)>.

ALMEIDA, V. M. *et al.* Triagem de drogas anticâncer: padronização do ensaio de ranhura *in vitro*. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 55, n. 6, p. 606–619, 2020. Disponível em: <<http://www.scielo.br/j/jbpm/a/JQXQPtwT8ZWLGcfhvVPqVVK/?lang=pt>>.

AL YAHYA, H.; SHAHER, F. M.; MAHYOUB, J. A. Larvicidal effects of some natural products on the *Aedes aegypti* mosquito, a vector of dengue fever and Zika virus. **Entomological Research**, v. 53, n. 5, p. 190–200, 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/1748-5967.12643>>.

ALVES, A.; SOUSA, R. A.; REIS, R. L. *In vitro* cytotoxicity assessment of ulvan, a

polysaccharide extracted from green algae. **Phytotherapy Research**, v. 27, n. 8, p. 1143–1148, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/ptr.4843>>.

ALVES, M. F. A. *et al.* Antihyperglycemic and antioxidant activities of a lectin from the marine red algae, *Bryothamnion seaforthii*, in rats with streptozotocin-induced diabetes.

International Journal of Biological Macromolecules, v. 158, p. 773–780, 2020. Disponível em:< <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.04.238>>.

AMARAL, A. C. Z. *et al.* Brazilian sandy beaches: characteristics, ecosystem services, impacts, knowledge and priorities. **Brazilian Journal of Oceanography**, v. 64, n. Special Issue 2, p. 5–16, 2016. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1590/S1679-875920160933064sp2> >.

ANSARI, A. A.; GHANEM, S. M. Seasonal variation in the growth responses of some chlorophytic algal flora of the Red Sea. **Egyptian Journal of Aquatic Research**, v. 43, n. 2, p. 129–134, 2017. Disponível em:< <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2017.04.001>>.

ARECES, A. J.; CABRERA, R.; DÍAZ-LARREA, J. **Guía ilustrada para el cultivo *in situ* de *Alsidium triquetrum***, São José dos Pinhais: Companhia de publicidade Brazilian Journals, 2022, 24 p. Disponível em:< DOI: 10.35587/brj.ed.0001359>.

ARINI, L. A. The study of sex steroid hormone compound in green algae (*Chlorophyta*) for female fertility: A literature review. **IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci**, v. 913 p. 012085, 2021. Disponível em:<DOI 10.1088/1755-1315/913/1/012085>.

AROYEHUN, A. Q. B. *et al.* Bioprospecting cultivated tropical green algae, *Caulerpa racemosa*: a perspective on nutritional properties, antioxidative capacity and anti-diabetic potential. **Foods**, v. 9, n. 9, 2020. Disponível em:< <https://doi.org/10.3390/foods9091313> >.

ARSIANTI, A. A. *et al.* Phytochemical composition and anticancer activity of seaweeds *Ulva lactuca* and *Eucheuma cottonii* against breast MCF-7 and colon HCT-116 cells. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, v. 9, n. 6, p. 115–119, 2016. Disponível em:< <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2016.v9i6.13798>>.

ATTIA, E. Z. *et al.* *Halimeda opuntia* and *Padina pavonica* extracts improve growth and metabolic activities in maize under soil-saline conditions. **Journal of Applied Phycology**, v. 34, n. 6, p. 3189–3203, 2022. Disponível em:<<https://doi.org/10.1007/s10811-022-02844-6>>.

BAHRAMSOLTANI, R.; FARZAEI, M. H.; RAHIMI, R. Medicinal plants and their natural components as future drugs for the treatment of burn wounds: An integrative review.

Archives of Dermatological Research, v. 306, n. 7, p. 601–617, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00403-014-1474-6>>.

BATISTA, S. V. *et al.* *In vitro* activity of pomegranate peel extract alone and in electrospun poly(vinyl alcohol)/sodium alginate matrix. **Biomedical and Biopharmaceutical Research Journal**, v. 17, n. 2, p. 1–19, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.19277/bbr.17.2.239>>

BEAUMONT, M. *et al.* Hydrogel-forming algae polysaccharides: from seaweed to biomedical applications. **Biomacromolecules**, v. 22, n. 3, p. 1027–1052, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/acs.biomac.0c01406>>.

BELKACEMI, L. *et al.* Antioxidant and antibacterial activities and identification of bioactive compounds of various extracts of *Caulerpa racemosa* from Algerian coast. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v.10, n. 2, p. 87–94, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.4103/2221-1691.275423>>.

BERNFELD, P. Amylases α and β . **Methods in enzymology**. v. 1, p. 149–158, 1955. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/0076-6879\(55\)01021-5](https://doi.org/10.1016/0076-6879(55)01021-5)>.

BHAT, I. *et al.* Carotenoid composition of locally found seaweeds of *Dakshina Kannada* district in India. **Algal Research**, v. 53, p. 102154, 2021. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211926420310225>>.

BHAYANI, D. *et al.* Analysis and evaluation of the antioxidant, antimicrobial and anticancer activities of the seaweeds of *Cystoseira indica* and *Sargassum vulgare* from gujarat coast, India. **Journal of the Maharaja Sayajirao University of Baroda**, v. 55, n. 1, p. 130–140, 2021. Disponível em: <<https://www.researchgate.net/publication/356596135>>.

BONDE, C. S. *et al.* Bio-guided fractionation and molecular networking reveal fatty acids to be principal anti-parasitic compounds in nordic seaweeds. **Frontiers in Pharmacology**, v. 12, p. 1–12, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.3389/fphar.2021.674520>>.

BRINGLOE, T. T. *et al.* Phylogeny and evolution of the brown algae. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 39, n. 4, p. 281–321, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/07352689.2020.1787679> View >.

BROWN, A. J. 24(S),25-epoxycholesterol: a messenger for cholesterol homeostasis. **The international journal of biochemistry & cell biology**, v. 41, n. 4, p. 744–747. 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biocel.2008.05.029>>.

- BUSTAMAM, M. S. A. *et al.* Complementary Analytical Platforms of NMR Spectroscopy and LCMS Analysis in the Metabolite Profiling of *Isochrysis galbana*. **Mar. Drugs**, v. 19, n. 3, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/md19030139>>.
- CARVALHO, D. N. *et al.* Marine origin biomaterials using a compressive and absorption methodology as cell-laden hydrogel envisaging cartilage tissue engineering. **Biomaterials Advances**, v. 137, p. 212843, 2022. Disponível em:<<https://doi.org/10.1016/j.bioadv.2022.212843>>.
- CARVALHO, K. S. *et al.* Toxicological evaluation of essential oil from the leaves of *Croton tetradenius* (Euphorbiaceae) on *Aedes aegypti* and *Mus musculus*. **Parasitology Research**, v. 115, p. 3441–3448, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00436-016-5106-2>>.
- CAVALCANTI, V. L. R. *et al.* *Chlorella vulgaris* lectin kills *Aedes aegypti* larvae. **Algal Research**, v. 56, 2021. Disponível em:<<https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102290>>.
- CHADHA, N.; SILAKARI, O. Indoles as therapeutics of interest in medicinal chemistry: Bird's eye view. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 134, p. 159–184, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.04.003>>.
- CHAN, B. C. *et al.* Hypericin and pheophorbide a mediated photodynamic therapy fighting MRSA Wound Infections: A translational study from *in vitro* to *in vivo*. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 9, p. 1399, 2021. Disponível em:<<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13091399>>.
- CHANDIKA, P.; KO, S. C.; JUNG, W. K. Marine-derived biological macromolecule-based biomaterials for wound healing and skin tissue regeneration. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 77, p. 24–35, 2015. Disponível em:<<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.02.050>>.
- CHEMAT, F.; VIAN, M. A.; CRAVOTTO, G. Green extraction of natural products: Concept and principles. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 13, n. 7, p. 8615–8627, 2012. Disponível em:<<https://doi.org/10.3390/ijms13078615>>.
- CHEN, Baoguo *et al.* Antitumor activity and mechanism of terpenoids in seaweeds based on literature review and network pharmacology. **Advanced Biology**, v. 8, n. 3, p. 2300541. 2024. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/adbi.202300541>>.
- CHEN, H. *et al.* Symbiotic Algae–bacteria dressing for producing hydrogen to accelerate diabetic wound healing. **Nano Letters**, v. 22, n. 1, p. 229–237, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.1c03693>>.

CHEN, K. *et al.* Comprehensive chlorophyll composition in the main edible seaweeds. **Food Chemistry**, v. 228, p. 625–633, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.02.036>>.

CHEN, L. Y.; CHENG, C. W.; LIANG, J. Y. Effect of esterification condensation on the Folin-Ciocalteu method for the quantitative measurement of total phenols. **Food Chemistry**, v. 170, p. 10–15, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.038>>.

CHENG, M.-C. *et al.* Chemical synthesis of 9(z)-octadecenamide and its hypolipidemic effect: a bioactive agent found in the essential oil of *Mountain Celery* seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 3, p. 1502–1508, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/jf903573g>>.

ČINČÁROVÁ, D. *et al.* Recommendations on the quantitative analysis of pheophorbides, photosensitizers present in algal biomass intended as food supplement. **Algal Research**, v. 56, n. April, p. 102298, 2021. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S221192642100117X>>.

CIRNE-SANTOS, C. C. *et al.* *In vitro* antiviral activity against Zika virus from a natural product of the Brazilian red seaweed *Bryothamnion triquetrum*. **Acta virologica**, v. 62, n. 4, p. 404–410, 2021. Disponível em: <http://www.elis.sk/index.php?page=shop.product_details&flypage>.

COIMBRA, C. S. **Inferências filogenéticas na ordem Fucales (*Phaeophyceae*), com ênfase no gênero *Sargassum* C. Agardh do Atlântico Sul**. 2006. Tese (Doutorado)-Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. São Paulo, 2006. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/41/41132/tde-22082007-101454/pt-br.php>>.

CRUZ, R. C. D. Da *et al.* Phytochemical and toxicological evaluation of a blend of essential oils of *Croton* species on *Aedes aegypti* and *Mus musculus*. **South African Journal of Botany**, v. 132, p. 188–195, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.03.040>>.

DALAL, S. R. *et al.* Characterization of alginate extracted from *Sargassum latifolium* and its use in *Chlorella vulgaris* growth promotion and riboflavin drug delivery. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1–17, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/s41598-021-96202-0>>.

DAVID, S. R.; BAHARULNIZAM, N. B.; RAJABALAYA, R. Review article A review on biological assays of red algae marine compounds : An insight into skin whitening activities.

Journal of Herbal Medicine, v. 35, p. 100585, 2022a. Disponível em:

<<https://doi.org/10.1016/j.hermed.2022.100585>>.

DE SOUZA, É. T. *et al.* The Antinociceptive and anti-inflammatory activities of caulerpin, a bisindole alkaloid isolated from seaweeds of the genus *Caulerpa*. **Mar. Drugs**, v. 7, n. 4, p. 689–704, 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/md7040689>>.

DEEPAK, P. *et al.* Phytochemical profiling of marine red alga, *Halymenia palmata* and its bio-control effects against Dengue Vector, *Aedes aegypti*. **South African Journal of Botany**, v. 121, p. 257–266, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.11.011>>.

DEUDERO, S. *et al.* Functional changes due to invasive species: Food web shifts at shallow *Posidonia oceanica* seagrass beds colonized by the alien macroalga *Caulerpa racemosa*. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 93, n. 2, p. 106–116, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ecss.2011.03.017>>.

DEYAB, M.; ELKATONY, T.; WARD, F. Qualitative and quantitative analysis of phytochemical studies on brown seaweed, *Dictyota dichotoma*. **International Journal of Engineering Development and Research**, v. 4, n. 2, p. 2321–9939, 2016. Disponível em: <<https://rjwave.org/IJEDR/papers/IJEDR1602118.pdf>>.

DHIVYA, S.; PADMA, V. V.; SANTHINI, E. Wound dressings – a review. **BioMedicine**, v. 5, n. 4, p. 22, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.7603/s40681-015-0022-9>>.

DJAPIC, N. Chemical Composition of *Vitis vinifera* leaves essential oil and supercritical carbon dioxide extract. **Natural Product Communications**, v. 18, n. 6, p. 1934578X231179882, 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.1177/1934578X231179882>>.

DUYGU, D. Y. *et al.* Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy for identification of *Chlorella vulgaris* Beijerinck 1890 and *Scenedesmus obliquus* (Turpin) Kützing 1833. **African Journal of Biotechnology**, v. 11, n. 16, p. 3817–3824, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.5897/AJB11.1863>>.

DWIVEDI, M. K. *et al.* Secondary metabolite profiling and characterization of diterpenes and flavones from the methanolic extract of *Andrographis paniculata* using HPLC-LC-MS/MS. **Future Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 7, n. 1, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s43094-021-00292-6>>.

EHSAN, S. *et al.* Role of algal compounds for human health. In: RAJAURIA, G.; YUAN, Y. V. (Org.) **Recent Advances in Micro and Macroalgal Processing**: John Wiley & Sons, Ltd,

p. 487–505, 2021. Disponível em:< <https://doi.org/10.1002/9781119542650.ch17>>.

ELBIALY, Z. I. *et al.* Healing potential of *Spirulina platensis* for skin wounds by modulating bFGF, VEGF, TGF- β 1 and α -SMA genes expression targeting angiogenesis and scar tissue formation in the rat model. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 137, p. 111349, 2021. Disponível em:< <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111349>>.

ELLMAN, G., *et al.* A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. England: **Biochemical pharmacology**, v. 7, p. 88–95, 1961. Disponível em:< [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(61\)90145-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(61)90145-9)>.

ELZEIN, T. *et al.* FTIR study of polycaprolactone chain organization at interfaces. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 273, n. 2, p. 381–387, 2004. Disponível em:< <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2004.02.001>>.

ESTEVEZ, P. O. *et al.* Antiviral effect of caulerpin against chikungunya. **Natural Product Communications**, v. 14, n. 10, 2019. Disponível em:< <https://doi.org/10.1177/1934578X19878295>>.

FAHMY, N. M. *et al.* Enhanced expression of p53 and suppression of PI3K / Akt / mTOR by three red sea algal extracts : Insights on their composition by LC-MS-based metabolic profiling and molecular networking. **Mar. Drugs**, v. 21, n. 7, p. 404, 2023. Disponível em:< <https://doi.org/10.3390/md21070404>>.

FALLARERO, A. *et al.* Are cinnamic acids responsible for in vitro neuroprotection exerted by *Bryothamnion triquetrum* (S.G.Gmelin) Howe aqueous extract? **Planta Medica**, v. 72, n. 11, 2006. Disponível em: < <https://doi.org/10.1055/s-2006-949991>>.

FAN, J. *et al.* Allelochemicals-mediated interaction between algae and bacteria: Direct and indirect contact. **Bioresource Technology**, v. 398, p. 130525, 2024. Disponível em: < <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2024.130525> >.

FERDOUS, U. T.; YUSOF, Z. N. B. Algal Terpenoids: A Potential Source of Antioxidants for Cancer Therapy. In: PERVEEN, S.; AL-TAWEEL, A. M. (Org.). **Terpenes and Terpenoids - Recent Advances**. Rijeka: IntechOpen, p. Ch. 6, 2021. Disponível em:< <https://doi.org/10.5772/intechopen.94122>>.

FERREIRA, J. *et al.* Red seaweeds strengthening the nexus between nutrition and health: phytochemical characterization and bioactive properties of *Grateloupia turuturu* and *Porphyra umbilicalis* extracts. **Journal of Applied Phycology**, v. 33, n. 5, p. 3365–3381,

2021. Disponível em:<<https://doi.org/10.1007/s10811-021-02529-6>>.

FERREIRA, T.; RASBAND, W. S. **Image J user Guide - IJ1.46r**, 2012. Disponível em:<<http://imagej.nih.gov/ij/docs/guide/>>.

FITHRIANI, D. Opportunities and challenges for developing *Caulerpa racemosa* as functional foods. **KnE Life Sciences**, v. 1, p. 85-96, 2015. Disponível em:<<https://doi.org/10.18502/cls.v1i0.90>>.

FONTENELLE, T. P. C. *et al.* Lectin obtained from the red seaweed *Bryothamnion triquetrum*: Secondary structure and anti-inflammatory activity in mice. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 112, p. 122–130, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.02.058>>.

FREESE, J. M.; LANE, C. E. Parasitism finds many solutions to the same problems in red algae (*Florideophyceae*, *Rhodophyta*). **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 214, p. 105–111, 2017. Disponível em:<<https://doi.org/10.1016/j.molbiopara.2017.04.006>>.

FREITAS, M. V *et al.* Red seaweed pigments from a biotechnological perspective. *phyecology*. **Phycology**, v. 2, n. 1, p. 1-29. 2022. Disponível em:<<https://doi.org/10.3390/phyecology2010001>>.

FRESHNEY, R. I. Cytotoxicity. *In*: FRESHNEY, R. I. (Org.). **Culture of Animal Cells**. Sixth ed. [S.l.]: John Wiley and Sons, p. 359–373, 2005. Disponível em:<<https://doi.org/10.1002/0471747599.cac022>>.

GAGER, L. *et al.* Marine algal derived phenolic compounds and their biological activities for medicinal and cosmetic applications. *In*: RAJAURIA,G.: YUAN, Y. V. (Org.) **Recent Advances in Micro and Macroalgal Processing**: Wiley, p. 278–334, 2021. Disponível em:<<https://doi.org/10.1002/9781119542650.ch11>>.

GAMAL, A. A. E. Biological Importance of Marine Algae. *In*: KIM, S.-K. (Org.) **Handbook of Marine Macroalgae**. [S.l.]: [s.n.], p. 1–35, 2011. Disponível em:<<https://doi.org/10.1002/9781119977087.ch1>>.

GANTWERKER, E. A.; HOM, D. B. Skin: Histology and physiology of wound healing. **Clinics in Plastic Surgery**, v. 39, n. 1, p. 85–97, 2012. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1016/j.cps.2011.09.005>>.

GEADA, P. *et al.* Algal proteins: Production strategies and nutritional and functional

properties. **Bioresource Technology**, v. 332, p. 125125, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125125>>.

GERALDES, V.; PINTO, E. Mycosporine-Like Amino Acids (MAAs): Biology, chemistry and identification features. **Pharmaceuticals**, v. 14, p. 63, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/ph14010063>>.

GHAHTAN, N. *et al.* From seaweed to healing: the potential of fucoidan in wound therapy. **Natural Product Research**, v. 39, n. 5, p. 1345-1358, 2024. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/14786419.2024.2358387>>.

GHALLAB, D. S. *et al.* Comprehensive metabolomics unveil the discriminatory metabolites of some mediterranean sea marine algae in relation to their cytotoxic activities. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 1–17, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/s41598-022-12265-7>>.

GHOSH, J. *et al.* Proliferation of mammalian cells with *Chlorococcum littorale* algal compounds without serum support. **Biotechnology Progress**, v. 40, n. 1, p. e3402, 2024. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/btpr.3402>>.

GHOSH, R.; BANERJEE, K.; MITRA, A. Eco-biochemical studies of common seaweeds in the lower gangetic delta. In: KIM, S.-K. (Org.) **Handbook of Marine Macroalgae**. [S.l.]: [s.n.], p. 45–57, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/9781119977087.ch3>>.

GIL, M. F. *et al.* *Culex quinquefasciatus* larvae development arrested when fed on *Neochloris aquatica*. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 15, n. 12, p. e0009988, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009988>>.

GOMEZ, L. P. *et al.* Innovative processing strategies and technologies to obtain hydrocolloids from macroalgae for food applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 248, p. 116784, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116784>>.

GÓMEZ, M. *et al.* *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus* microbiome/virome: new strategies for controlling arboviral transmission? **Parasites & Vectors**, v. 15, n. 1, p. 287, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s13071-022-05401-9>>.

GUERRA DORE, C. M. P. *et al.* Antiangiogenic activity and direct antitumor effect from a sulfated polysaccharide isolated from seaweed. **Microvascular Research**, v. 88, p. 12–18, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.mvr.2013.03.001>>.

GUERRA DORE, C. M. P. *et al.* A sulfated polysaccharide, fucans, isolated from brown algae *Sargassum vulgare* with anticoagulant, antithrombotic, antioxidant and anti-inflammatory effects. **Carbohydrate Polymers**, v. 91 p. 467– 475, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.07.075>>.

GUIL-GUERRERO, J. L. Stearidonic acid (18:4-3): Metabolism, nutritional importance, medical uses and natural sources. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 109, n. 12, p. 1226–1236, 2007. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/ejlt.200700207>>.

GUNATHILAKE, T. *et al.* Seaweed Phenolics as natural antioxidants, aquafeed additives, veterinary treatments and cross-linkers for microencapsulation. **Marine Drugs**, v. 20, n.7, p. 445, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/md20070445>>.

HARON, F. K. *et al.* Antiparasitic potential of methanol extract of brown alga *Sargassum polycystum* (Phaeophyceae) and Its LC-MS/MS Metabolite Profiling. **Diversity**, v. 14, n. 10, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/d14100796>>.

HARTMANN, A. *et al.* Analysis of mycosporine-like amino acids in selected algae and cyanobacteria by hydrophilic interaction liquid chromatography and a novel MAA from the red alga *Catenella repens*. **Marine Drugs**, 2015. v. 13, n. 10, p. 6291–6305. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/md13106291>>.

HEHEMANN, J. H. *et al.* Bacteria of the human gut microbiome catabolize red seaweed glycans with carbohydrate-active enzyme updates from extrinsic microbes. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 109, n. 48, p. 19786–19791, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1073/pnas.1211002109>>.

HIGA, T.; KUNIYOSHI, M. Toxins associated with medicinal and edible seaweeds. **Journal of Toxicology - Toxin Reviews**, v. 19, n. 2, p. 119–137. 2000. Disponível em: <

<https://doi.org/10.1081/TXR-100100317>>.

HUANG, W. *et al.* Algal sulfated polysaccharide-based hydrogels enhance gelling properties and in vitro wound healing compared to conventional hydrogels. **Algal Research**, 2022. v. 65, p. 102740. Disponível em: <<https://doi.org/10.1081/TXR-100100317>>.

HUMAIID, A. *et al.* Preliminary phytochemical screening for various secondary metabolites, quantitative and qualitative analysis of Yemeni brown seaweed *Sargassum vulgare*. **GSC Biological and Pharmaceutical Sciences**, v. 20, n. 01, p. 298–313, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.30574/gscbps.2022.20.1.0294>>.

IBRAHIM, R. Y. M. *et al.* The possible role of the seaweed *Sargassum vulgare* as a

promising functional food ingredient minimizing aspartame-associated toxicity in rats.

International Journal of Environmental Health Research, v. 32, n. 4, p. 752–771, 2020.

Disponível em: < <https://doi.org/10.1080/09603123.2020.1797642>>.

IJAOLA, A. O. *et al.* Algae as a potential source of protein: A review on cultivation, harvesting, extraction, and applications. **Algal Research**, v. 77, p. 103329, 2024. Disponível em: < <https://doi.org/10.1016/j.algal.2023.103329> >.

INA, A. *et al.* Pheophytin a, a low molecular weight compound found in the marine brown alga *Sargassum fulvellum*, promotes the differentiation of PC12 cells. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 25, n. 1, p. 63–68, 2007. Disponível em: < <https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2006.09.323> >.

ISHIHARA, K. *et al.* Purification of stearidonic acid (18:4(n-3)) and hexadecatetraenoic acid (16:4(n-3)) from algal fatty acid with lipase and medium pressure liquid chromatography. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 64, n. 11, p. 2454–2457, 2000. Disponível em: <<https://doi.org/10.1271/bbb.64.2454>>.

ISLAM, F. *et al.* Indole alkaloids from marine resources: Understandings from therapeutic point of view to treat cancers. **Chemico-Biological Interactions**, v. 383, p. 110682, 2023. Disponível em: < <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2023.e02051> >.

JÄPELT, R. B.; JAKOBSEN, J. Vitamin D in plants: a review of occurrence, analysis, and biosynthesis. Switzerland: **Frontiers in plant science**, v. 4, p. 136, 2013. Disponível em:< <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00136>>.

JOUNG, E. J. *et al.* Meroterpenoid-Rich Fraction of the Ethanol Extract of *Sargassum Serratifolium* Suppresses Collagen-Induced Rheumatoid Arthritis in DBA/1J Mice Via Inhibition of Nuclear Factor κ B Activation. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 64, n. 3, p. 1900373. 2020. Disponível em:< <https://doi.org/10.1002/mnfr.201900373>>.

KAILAS, A. P.; NAIR, M. S. Saponins and the *in vitro* bioactivities of different solvent extracts of some tropical green and red seaweeds. **Journal of Coastal Life Medicine**, v. 3, n. 12, p. 931–943. 2015. Disponível em: < DOI:10.12980/JCLM.3.2015J5-101 >.

KAKADE, M. L.; SIMONS, N.; LIENER, I. E. An evaluation of natural vs. synthetic substrates for measuring the antitryptic activity of soybean samples. **Cereal Chemistry**. v. 46, p. 518–526, 1969.

KALASARIYA, H. S.; PEREIRA, L. Dermo-cosmetic benefits of marine macroalgae-derived

phenolic compounds. **Applied Sciences (Switzerland)**, v. 12, n. 23, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/app122311954>>.

KASE, A. G. O.; CALUMPONG, H.; RUPIDARA, A. Secondary metabolites of some varieties of *Caulerpa* species. **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**, v. 823, n. 1, p. 012041, 2020. Disponível em: <<https://dx.doi.org/10.1088/1757-899X/823/1/012041>>.

KHAN, M. R.; OMOLOSO, A. D. Antibacterial and antifungal activities of *Breynia cernua*. **Fitoterapia**, v. 79, n. 5, p. 370–373, 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.fitote.2008.02.008>>.

KHAN, S. *et al.* Exploring the interaction of quercetin-3-O-sophoroside with SARS-CoV-2 main proteins by theoretical studies: A probable prelude to control some variants of coronavirus including Delta. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 14, n. 10, p. 103353. 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2021.103353>>.

KILIC, M. *et al.* Insecticidal activity of forty-seven marine algae species from the Mediterranean, Aegean, and Sea of Marmara in connection with their cholinesterase and tyrosinase inhibitory activity. **South African Journal of Botany**, v. 143, p. 435–442, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.06.038>>.

KIM, I.-S. *et al.* Ephedrannin A and B from roots of *Ephedra sinica* inhibit lipopolysaccharide-induced inflammatory mediators by suppressing nuclear factor- κ B activation in RAW 264.7 macrophages. Netherlands: **International immunopharmacology**, v. 10, n. 12, p. 1616–1625, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.intimp.2010.09.019>>.

KIM, J. H. *et al.* Beneficial effects of marine algae-derived carbohydrates for skin health. **Marine Drugs**, v.16, n. 11, p. 459, 2018. Disponível em; <<https://doi.org/10.3390/md16110459>>.

KIM, S. K. **Handbook of Marine Macroalgae: Biotechnology and Applied Phycology**. [S.l.]: Wiley, 2011. Disponível em:< DOI:10.1002/9781119977087>

KOŁODZIEJ, H.; KIDERLEN, A. F. Antileishmanial activity and immune modulatory effects of tannins and related compounds on *Leishmania* parasitised RAW 264.7 cells. **Phytochemistry**, v. 66, n. 17, p. 2056–2071, 2005. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2005.01.011>>.

KORBEE, N; FIGUEROA, F L; AGUILERA, J. Accumulation of mycosporine-like amino acids (MAAs): biosynthesis, photocontrol and ecophysiological functions. **Revista Chilena De Historia Natural**, v. 79, n. 1, p. 119–132, 2006. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.4067/S0716-078X2006000100010>>.

KÜENZI, P. *et al.* Promotion of cell death or neurite outgrowth in PC-12 and N2a cells by the fungal alkaloid militarinone depends on basal expression of p53. **Apoptosis**, v. 13, n. 3, p. 364–376, 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10495-008-0185-x>>.

KUMAR, A. *et al.* Algal metabolites can be an immune booster against COVID-19 pandemic. **Antioxidants**, v. 11, n. 3, p. 1–17, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/antiox11030452>>.

KUMAR, A. *et al.* Effects of ocean acidification on the levels of primary and secondary metabolites in the brown macroalga *Sargassum vulgare* at different time scales. **Science of The Total Environment**, v. 643, p. 946–956, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.06.176>>.

_____ *et al.* Molecular response of *Sargassum vulgare* to acidification at volcanic CO vents: Insights from proteomic and metabolite analyses. **Molecular Ecology**, v. 31, n. 14, p. 3844–3858, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/mec.16553>>.

KUMAR, K. S. *et al.* Influence of seasonal variation on chemical composition and nutritional profiles of macro- and microalgae. In: RAJAURIA, G.; YUAN, Y. V. (Org.) **Recent Advances in Micro and Macroalgal Processing**: Wiley, p. 14–71, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/9781119542650.ch2>>.

KUMAR, S.; SAHOO, D.; LEVINE, I. Assessment of nutritional value in a brown seaweed *Sargassum wightii* and their seasonal variations. **Algal Research**, v. 9, p. 117–125, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.02.024>>.

KUMAR, Y. *et al.* Ultrasound assisted extraction of selected edible macroalgae: Effect on antioxidant activity and quantitative assessment of polyphenols by liquid chromatography with tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). **Algal Research**, v. 52, p. 102114, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.102114>>.

KUMARI, K. *et al.* Mosquito larvicidal and bactericidal action of crude extract of marine brown alga *Turbinaria conoides*. **Asia-Pacific Journal of Science and Technology**, v. 25, n. 2, 2020. Disponível em: <<https://so01.tci-thaijo.org/index.php/APST/article/view/148937>>.

KUNDU, A. *et al.* Nature to lab transfer story of the nutritious alga *Catenella*: a comprehensive review. **Vegetos**, v. 36, n. 3, p. 743–749, 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s42535-022-00475-3>>.

LEE, H.-G. *et al.* Effects of ethanol extracts from *Grateloupia elliptica*, a red seaweed, and its chlorophyll derivative on 3T3-L1 adipocytes: suppression of lipid accumulation through downregulation of adipogenic protein expression. **Marine Drugs**, v. 19, n. 2, p. 91, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/md19020091>>.

LEE, H.-R. *et al.* Effects of fucoidan on neuronal cell proliferation: Association with NO production through the iNOS pathway. **Preventive Nutrition and Food Science**, v. 12, n. 2, p. 74–78, 2007. Disponível em: <DOI: 10.3746/jfn.2007.12.2.074>.

LELIAERT, F. Green algae: Chlorophyta and streptophyta. In: SCHMIDT, T. M. (Org.) **Encyclopedia of Microbiology**, 4 ed. p. 457–468, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.20890-X>>.

LEONG, C. S. *et al.* Enzymatic and molecular characterization of insecticide resistance mechanisms in field populations of *Aedes aegypti* from Selangor, Malaysia. **Parasites and Vectors**, v. 12, n. 1, p. 1–17, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s13071-019-3472-1>>.

LIN, J.; JIAO, G.; KERMANS SHAHI-POUR, A. Algal polysaccharides-based hydrogels: extraction, synthesis, characterization, and applications. **Mar. Drugs**, v. 20, n. 5, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/md20050306>>.

LIU, D.-Q. *et al.* Racemosins A and B, two novel bisindole alkaloids from the green alga *Caulerpa racemosa*. **Fitoterapia**, v. 91, p. 15–20, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.fitote.2013.08.014>>.

LIU, H. *et al.* Effective natural antifouling compounds from the plant *Nerium oleander* and testing. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 127, p. 170–177, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.11.022>>.

LIU, L.; LIN, L. Effect of Heat Stress on *Sargassum fusiforme* Leaf Metabolome. **Journal of Plant Biology**, v. 63, n. 3, p. 229–241, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s12374-020-09247-5>>.

LIU, R. *et al.* Two indolocarbazole alkaloids with apoptosis activity from a marine-derived actinomycete Z2039-2. Arch Pharm Res. **Arch Pharm Res** v. 30, p. 270–274, 2007.

Disponível em: < <https://doi.org/10.1007/BF02977605> r>.

LIU, X. *et al.* Preliminary characterization of the structure and immunostimulatory and anti-aging properties of the polysaccharide fraction of: *Haematococcus pluvialis*. **RSC Advances**, v. 8, n. 17, p. 9243–9252, 2018. Disponível em: < <https://doi.org/10.1039/C7RA11153C> >.

LOMAKOOL, S. *et al.* Biological activities and phytochemicals profiling of different cyanobacterial and microalgal biomass. **Biomass Conversion and Biorefinery**, v. 13, n. 5, p. 4195–4211, 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s13399-021-01974-0>>.

LORENSI, G. H. *et al.* Entomotoxic Activity of *Prasiola crispa* (Antarctic Algae) in *Nauphoeta cinerea* Cockroaches: Identification of main steroidal compounds. **Mar. Drugs**, 2019. v. 17, n. 10. Disponível em:< <https://doi.org/10.3390/md17100573>>.

LOWRY, O. H. *et al.* Protein measurement with the Folin phenol reagent. United States: **The Journal of biological chemistry**, v. 193, n. 1, p. 265–275, 1951. Disponível em:< [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(19)52451-6)>.

LU, J.; ZHANG, C.; WU, J. Removal of steroid hormones from mariculture system using seaweed *Caulerpa lentillifera*. **Frontiers of Environmental Science & Engineering**, v. 16, n. 2, p. 15, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s11783-021-1449-8>>.

MA, J. *et al.* Recent advances in living algae seeding wound dressing: focusing on diabetic chronic wound healing. **Advanced Functional Materials**, v. 34, n. 2, p. 2308387, 2024. Disponível em: <MA>.

MABROUK, S. B. *et al.* The marine seagrass *Halophila stipulacea* as a source of bioactive metabolites against obesity and biofouling. **Mar. Drugs**, v. 18, n. 2, 2020. Disponível em:< <https://doi.org/10.3390/md18020088>>.

MACEDO, M. L. R. *et al.* Insecticidal action of *Bauhinia monandra* leaf lectin (BmoLL) against *Anagasta kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae), *Zabrotes subfasciatus* and *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 146, n. 4, p. 486–498, 2007. Disponível em: < <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2006.01.020> >.

MACEDO, N. R. P. V. *et al.* Caulerpin as a potential antiviral drug against herpes simplex virus type 1. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 22, n. 4, p. 861–867, 2012. Disponível em: < <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2012005000072> >.

- MACHU, L. *et al.* Phenolic content and antioxidant capacity in algal food products. *molecules*. **Molecules** 20(1), 1118-1133, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/molecules20011118>>.
- MAGWAZA, S. N. *et al.* Evaluation of the antidiabetic, antiobesity and antioxidant potential of *Anthophycus longifolius* ((Turner) Kützinger). **Scientific African**, v. 23, p. e02051, 2024. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2023.e02051>>.
- MAHENDRAN, S. *et al.* Evaluation of antioxidant and cytotoxicity activities of polyphenol extracted from brown seaweed *Sargassum tenerrimum* biomass. **Biomass Conversion and Biorefinery**, v. 1, p. 3, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s13399-022-02301-x>>.
- MAIA, R. M. *et al.* Avaliação do sequestro do óxido nítrico (NO) pelo extrato metanólico da alga *Bryothamnion triquetrum* (Gmelin) Howe. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 4, p. 489–493, 2010. Disponível em: <• <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2010000400005>>.
- MANDEL, S.; YODIM, M. B. H. Catechin polyphenols: neurodegeneration and neuroprotection in neurodegenerative diseases. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 37, n. 3, p. 304–317, 2004. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2004.04.012>>.
- MARINHO-SORIANO, E. *et al.* Seasonal variation in the chemical composition of two tropical seaweeds. **Bioresource Technology**, v. 97, n. 18, p. 2402–2406, 2006. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.10.014>>.
- MARQUES, F. *et al.* Lipidomic Characterization and Antioxidant Activity of Macro- and Microalgae Blend. Switzerland: **Life**, 13 jan. 2023. v. 13, n. 1, p. 231. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2075-1729/13/1/231>>.
- MARTÍĆ, A. *et al.* Intra-species variations of bioactive compounds of two *Dictyota* species from the adriatic sea : antioxidant, and neuroprotective potential. **Antioxidants**, v. 12, n. 4, p. 857, 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/antiox12040857>>.
- MARTÍN-MARTÍN, R. P. *et al.* Experimental evidence of antimicrobial activity in Antarctic seaweeds: ecological role and antibiotic potential. **Polar Biology**, v. 45, n. 5, p. 923–936, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00300-022-03036-1>>.
- MARY, J. S.; VINOTHA, P.; PRADEEP, A. M. Screening for in vitro cytotoxic activity of seaweed, *Sargassum sp.* against Hep-2 and MCF-7 cancer cell lines. **Asian Pacific journal of cancer prevention**, v. 13, n. 12, p. 6073–6076, 2012. Disponível em: <

<https://doi.org/10.7314/APJCP.2012.13.12.6073>>.

MATEOS, R.; PÉREZ-CORREA, J. R.; DOMÍNGUEZ, H. Bioactive properties of marine phenolics. **Marine Drugs**, v. 18, n. 10, p. 501, 2020. Disponível em: <
<https://doi.org/10.3390/md18100501> >.

MESQUITA, J. X. *et al.* Lectin from red algae *Amansia multifida* Lamouroux: Extraction, characterization and anti-inflammatory activity. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 170, p. 532–539, 2021. Disponível em: <
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.12.203> >.

MIGUEL, M. G. *et al.* Phenols , flavonoids and antioxidant activity of aqueous and methanolic extracts of propolis (*Apis mellifera* L .) from Algarve , South Portugal. **Food Science and Technology**, v. 34, n. 1, p. 16–23, 2014. Disponível em:<
<https://doi.org/10.1590/S0101-20612014000100002>>.

MINHAS, L. A. *et al.* Algae-derived bioactive compounds as potential pharmaceuticals for cancer therapy: A comprehensive review. **Algal Research**, v. 78, p. 103396, 2024. Disponível em: <
<https://doi.org/10.1016/j.algal.2024.103396> >.

MOSTAFA, S. *et al.* Biochemical and cytotoxicity evaluation of marine algae *Sargassum Wightii* and *Gracilaria Edulis* extracts. agricultural biochemistry. **Egyptian Journal of Chemistry**, v. 67, n. 7, p. 525–534, 2024. Disponível em: <
<https://doi.org/10.21608/ejchem.2023.240294.8702> >.

MOTA, G. V. S.; COSTA, F. L. P. A theoretical study to the loliolide molecule and its isomers: a study by circular dichroism, QTAIM, and NMR theoretical methods. **Journal of Molecular Modeling**, v. 27, n. 4, p. 116, 2021. Disponível em:
<<https://doi.org/10.1007/s00894-021-04725-0>>.

MOUBAYED, N. M. S. *et al.* Antimicrobial, antioxidant properties and chemical composition of seaweeds collected from Saudi Arabia (Red Sea and Arabian Gulf). **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 24, n. 1, p. 162–169, 2017. Disponível em:<
<https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.05.018> >.

MURDOCK, J. N.; WETZEL, D. L. FT-IR microspectroscopy enhances biological and ecological analysis of algae. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 44, n. 4, p. 335–361, 2009. Disponível em: <
<https://doi.org/10.1080/05704920902907440>>.

MUSTAFA, S.; MOBASHIR, M. LC–MS and docking profiling reveals potential difference

between the pure and crude fucoidan metabolites. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 143, p. 11–29, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.11.232>>.

NAGARAJ, S. R.; OSBORNE, J. W. Bioactive compounds from *Caulerpa racemosa* as a potent larvicidal and antibacterial agent. **Frontiers in Biology**, v. 9, n. 4, p. 300–305, 2014. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s11515-014-1312-4>>.

NAPOLEÃO, T. H. *et al.* Effect of *Myracrodruon urundeuva* leaf lectin on survival and digestive enzymes of *Aedes aegypti* larvae. **Parasitology Research**, v. 110, n. 2, p. 609–616, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00436-011-2529-7>>.

NGUYEN, P. H. *et al.* New stilbenoid with inhibitory activity on viral neuraminidases from *Erythrina addisoniae*. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 20, n. 22, p. 6430–6434, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2010.09.077>>.

NOORJAHAN, A.; AIYAMPERUMAL, B.; ANANTHARAMAN, P. Characterization and biochemical properties of brown seaweed *Sargassum Tenerrimum* (J. agardh). **International Journal of Pharmacy and Biological Sciences**. v. 9, n. 2, p. 9, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.21276/ijpbs.2019.9.2.34>>.

OKUNOWO, W. O. *et al.* GC-MS Analysis and antimicrobial properties of methanolic extracts of the marine algae *Skeletonema costatum* and *Chaetoceros spp.* **Biokemistri**, v. 28, n. 1, p. 24–33, 2016. Disponível em: <<https://www.ajol.info/index.php/biokem/issue/view/18698>>.

OLATE-GALLEGOS, C. *et al.* Identification of polyphenols from chilean brown seaweeds extracts by LC-DAD-ESI-MS/MS. **Journal of Aquatic Food Product Technology**, v. 28, n. 4, p. 375–391, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/10498850.2019.1594483>>.

OPAS/OMS. Organização Pan-Americana da Saúde / Organização Mundial de Saúde. **Atualização Epidemiológica: Dengue, Chikungunya e Zika**. Washington, OPAS/OMS. 2023. Disponível em: <<https://www.paho.org/pt/documentos/atualizacao-epidemiologica-dengue-chikungunya-e-zika-25-janeiro-2023>>.

ORFANOUDAKI, M. *et al.* Isolation and structure elucidation of novel mycosporine-like amino acids from the two intertidal red macroalgae *Bostrychia scorpioides* and *Catenella caespitosa*. **Mar. Drugs**, v. 21, n. 10, p. 543, 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/md21100543>>.

- PALANISAMY, S. *et al.* A green route to synthesis silver nanoparticles using *Sargassum polycystum* and its antioxidant and cytotoxic effects: An *in vitro* analysis. **Materials Letters**, v. 189, p. 196–200, 2017. Disponível em: < <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2016.12.005> >.
- PANCHATCHARAM, M. *et al.* Curcumin improves wound healing by modulating collagen and decreasing reactive oxygen species. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 290, n. 1–2, p. 87–96, 2006. Disponível em: < <https://doi.org/10.1007/s11010-006-9170-2> >.
- PANG, J. R. *et al.* Cholinesterase inhibitory activities of neuroprotective fraction derived from red alga *Gracilaria manilaensis*. **Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 25, n. 2, p. 49–63, 2022. Disponível em: < <https://doi.org/10.47853/FAS.2022.e6> >.
- PANGESTUTI, R.; KIM, S.-K. Neuroprotective effects of marine algae. **Mar. Drugs**, v. 9, n. 5, p. 803–818; 2011. Disponível em: < <https://doi.org/10.3390/md9050803> >.
- PENG, Y. *et al.* Diversified chemical structures and bioactivities of the chemical constituents found in the brown algae family *sargassaceae*. **Mar. Drugs**, v. 22, n.2, p. 59, 2024. Disponível em: < <https://doi.org/10.3390/md22020059> >.
- PEREIRA, D. M. *et al.* Anti-Proliferative activity of meroditerpenoids isolated from the brown alga *Styopodium flabelliforme* against several cancer cell lines. **Mar. Drugs**, v. 9, p. 852–862, 2011. Disponível em: < <https://doi.org/10.3390/md9050852> >.
- PEREIRA, L. *et al.* Use of FTIR, FT-Raman and ¹³C-NMR spectroscopy for identification of some seaweed phycocolloids. **Biomolecular Engineering**, v. 20, n. 4–6, p. 223–228, 2003. Disponível em: < [https://doi.org/10.1016/S1389-0344\(03\)00058-3](https://doi.org/10.1016/S1389-0344(03)00058-3) >.
- PÉREZ-RODRÍGUEZ, E.; AGUILERA, J.; FIGUEROA, F. L. Tissular localization of coumarins in the green alga *Dasycladus vermicularis* (Scopoli) krasser: A photoprotective role? **Journal of Experimental Botany**, v. 54, n. 384, p. 1093–1100, 2003. Disponível em: < <https://doi.org/10.1093/jxb/erg111> >.
- PERMATASARI, H. K. *et al.* Kombucha tea from seagrapes (*Caulerpa racemosa*) potential as a functional anti-ageing food: *in vitro* and *in vivo* study. **Heliyon**, v. 7, n. 9, p. e07944, 2021. Disponível em: < <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07944> >.
- _____ *et al.* Anti-cancer properties of *Caulerpa racemosa* by altering expression of Bcl-2, BAX, cleaved caspase 3 and apoptosis in HeLa cancer cell culture. **Frontiers in Oncology**, 2022. v. 12. Disponível em: < <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.964816> >.

PERUMAL, P. *et al.* Larvicidal property of the extracts of the seaweeds; *Sargassum wightii*, *S. ilicifolium* and *Gelidiella acerosa* against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 43, p. 102436, 2022.

Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.bcab.2022.102436>>.

PETCHIDURAI, G. *et al.* Insecticidal activity of tannins from selected brown macroalgae against the Cotton Leafhopper *Amrasca devastans*. **Plants**, v. 12, n. 18, p. 3188; 2023.

Disponível em:<<https://doi.org/10.3390/plants12183188>>.

PINHEIRO, A. De A. **Efeito pró-cicatrizante da lectina isolada da alga marinha vermelha *Bryothamnion triquetrum* no tratamento de feridas induzidas em modelos experimentais *in vitro* e *in vivo***. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2021. ISBN 9781626239777. Disponível em: <<http://repositorio.ufc.br/handle/riufc/61241>>.

PIRES, J. S. *et al.* **Ensaio em microplaca de substâncias redutoras pelo método do Folin-Ciocalteu para extratos de algas**. São Paulo: Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, p. 1–5, 2017.

PLOUGUERNÉ, E. *et al.* Antiviral sulfoquinovosyldiacylglycerols (SQDGs) from the Brazilian brown seaweed *Sargassum vulgare*. **Mar. Drugs**, v. 11, n. 11, p. 4628–4640, 2013.

Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/md11114628>>.

_____ *et al.* Glycoglycerolipids from *Sargassum vulgare* as potential antifouling agents.

Frontiers in Marine Science, v. 7, p. 1–9, 2020. Disponível em: <

<https://doi.org/10.3389/fmars.2020.00116>>.

PRADHAN, B. *et al.* Beneficial effects of seaweeds and seaweed-derived bioactive compounds: Current evidence and future prospective. **Biocatalysis and Agricultural**

Biotechnology, v. 39, p. 102242, 2022. Disponível em:

<<https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.102242>>.

PRASAIN, J. K. *et al.* Electrospray tandem mass spectrometric analysis of zeaxanthin and its oxidation products. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 40, n. 7, p. 916–923, 2005.

Disponível em:<<https://doi.org/10.1002/jms.868>>.

PRAYOGO, E. W. *et al.* Identification of metabolite compounds from a ethanol extract of *Caulerpa racemosa* using LC-MS/MS with Inhibitory activity of interleukin-1 β and

expression inhibitory nitric oxide synthase enzyme; *In silico* virtual screening. **Trends in Sciences**,. v. 21, n. 9, p. 8026, 2024. Disponível em:<

<https://doi.org/10.48048/tis.2024.8026>>.

PREMARATHNA, A. D. *et al.* *In vitro* and *in vivo* evaluation of the wound healing properties and safety assessment of two seaweeds (*Sargassum ilicifolium* and *Ulva lactuca*). **Biochemistry and Biophysics Reports**, v. 26, p. 100986, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2021.100986>>.

RAJA, K.; KADIRVEL, V.; SUBRAMANIYAN, T. Seaweeds, an aquatic plant-based protein for sustainable nutrition - A review. **Future Foods**, v. 5, p. 100142, 2022. Disponível em:< <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2022.100142>>.

RANGA, R. *et al.* Identification of carotenoids from green alga *Haematococcus pluvialis* by HPLC and LC-MS (APCI) and their antioxidant properties. Korea (South): **Journal of microbiology and biotechnology**, v. 19, n. 11, p. 1333–41, 2009. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19996684>>.

RASHWAN, R. S.; HAMMAD, D. M. Toxic effect of *Spirulina platensis* and *Sargassum vulgar* as natural pesticides on survival and biological characteristics of cotton leaf worm *Spodoptera littoralis*. **Scientific African**, v. 8, p. e00323, 2020. Disponível em:< <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2020.e00323>>.

RASTIAN, H. S. *et al.* Isolation and characterization of anti-inflammatory compounds from *Sargassum horneri* via high-performance centrifugal partition chromatography and high-performance liquid chromatography. **Algal Research**, v. 54, p. 102209, 2021. Disponível em:< <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102209>>.

RASTIAN, Z. *et al.* Antioxidant activity of brown algae *Sargassum vulgar* and *Sargassum angustifolium*. **Journal of Aquatic Food Product Technology**, v. 16, n. 2, p. 17–26, 2007. Disponível em:< https://doi.org/10.1300/J030v16n02_03>.

RASTOGI, P.; KANDASUBRAMANIAN, B. Review of alginate-based hydrogel bioprinting for application in tissue engineering. **Biofabrication**, v. 11, n. 4, p. 042001, 2019. Disponível em: < <https://doi.org/10.1088/1758-5090/ab331e>>.

RENGASAMY, K. R. *et al.* Bioactive compounds in seaweeds: An overview of their biological properties and safety. **Food and Chemical Toxicology**, v. 135, p. 111013, 2020. Disponível em: < <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.111013>>.

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. Disponível em: < <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.01.272> >.

ROBSON, M. C. Proliferative scarring. **Surgical Clinics of North America**, v. 83, n. 3, p. 557–569, 2003. Disponível em: < [https://doi.org/10.1016/S0039-6109\(02\)00197-4](https://doi.org/10.1016/S0039-6109(02)00197-4) >.

ROCHA, C. P. *et al.* Seaweeds as valuable sources of essential fatty acids for human nutrition. **International Journal of Environmental Research and Public Health**. v. 18, n. 9, p. 4968, 2021. Disponível em: < <https://doi.org/10.3390/ijerph18094968> >.

RONG, L. *et al.* Inhibition by marine algae of chikungunya virus isolated from patients in a recent disease outbreak in Rio de Janeiro. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, n. 2426, 2019. Disponível em: < <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02426> >.

SAIDE, A.; LAURITANO, C.; IANORA, A. Pheophorbide a: State of the Art. **Mar. Drugs**, v. 18, n. 5, p. 257, 2020. Disponível em: < <https://doi.org/10.3390/md18050257> >.

SANGER, G. *et al.* Green seaweed *Caulerpa racemosa* - Chemical constituents, cytotoxicity in breast cancer cells and molecular docking simulation. **Journal of Agriculture and Food Research**, v. 12, p. 100621. 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jafr.2023.100621>>.

SANTOS FILHO, L. G. A. *et al.* Epiphytism in a population of *Sargassum vulgare* C. Agardh (*Phaeophyceae*: Fucales) in the Coqueiro Beach, Piauí, Brazil. **Arquivos de Ciências do Mar**, v. 45, n. 2, p. 77- 80, 2012. Disponível em:<<https://doi.org/10.32360/acmar.v45i2.136>>.

SANTOS, J. S. S. *et al.* Seasonal evaluation of the impacts of coastal urbanization on seaweed communities on the coast of Pernambuco, Brazil. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 7, p. 42905-42938, 2020. Disponível em:<<https://doi.org/10.34117/bjdv6n7-056>>.

SARASWATI *et al.* *Sargassum* seaweed as a source of anti-inflammatory substances and the potential insight of the tropical species: A review. **Mar. Drugs**, v. 17, n. 10, p. 590, 2019. Disponível em:<<https://doi.org/10.3390/md17100590>>.

SCHMITZ, C. **Compostos fotoprotetores que absorvem radiação UV-vis em algas pardas (phaeophyceae) da costa do Brasil**. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2017. ISBN 9781119130536. Disponível em:<<https://repositorio.ufsc.br/xmlui/handle/123456789/181609>>.

_____ *et al.* UVR and PAR absorbing compounds of marine brown macroalgae along a

latitudinal gradient of the Brazilian coast. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 178, p. 165–174, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2017.10.029>>.

SCHNEIDER, G. *et al.* Photoprotection properties of marine photosynthetic organisms grown in high ultraviolet exposure areas: Cosmeceutical applications. **Algal Research**, v. 49, p. 101956. 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.101956>>.

SELLIMI, S. *et al.* Antioxidant, antibacterial and *in vivo* wound healing properties of laminaran purified from *Cystoseira barbata* seaweed. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 119, p. 633–644, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.07.171>>.

SELMİ, A. *et al.* Analysis of minerals and heavy metals using ICP-OES and FTIR techniques in two red seaweeds (*Gymnogongrus griffithsiae* and *Asparagopsis taxiformis*) from Tunisia. **Biological Trace Element Research**, v. 199, n. 6, p. 2342–2350, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s12011-020-02335-0>>.

SENNI, K. *et al.* Marine polysaccharides: A source of bioactive molecules for cell therapy and tissue engineering. **Mar. Drugs**, v. 9, n. 9, p. 1664–1681, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/md9091664>>.

SEZER, A. D. *et al.* Chitosan film containing fucoidan as a wound dressing for dermal burn healing: Preparation and *in vitro/in vivo* evaluation. **AAPS PharmSciTech**, v. 8, n. 2, p. 1–8, 2007. Disponível em: <<https://doi.org/10.1208/pt0802039>>.

SHARIFUDDIN, Y. *et al.* Potential bioactive compounds from seaweed for diabetes management. **Mar. Drugs**, v. 13, n. 8, p. 5447–5491, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/md13085447>>.

SHARMA, S. *et al.* Quercetin 3-O-rutinoside prevents radiation induced oxidative damage and inflammation by coordinated regulation of Nrf2/ NF-κB/ NLRP3- inflammasome signaling in gastrointestinal. **Phytomedicine Plus**, v. 3, n. 1, p. 100385, 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.phyplu.2022.100385>>.

SHOBHARANI, P. *et al.* Antioxidant and anticoagulant activity of polyphenol and polysaccharides from fermented *Sargassum sp.* **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 65, p. 542–548, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.02.005>>.

SHOW, K. Y.; YAN, Y. G.; LEE, D.-J. Advances in Drying and Milling Technologies for Algae. In: RAJAURIA, G.; YUAN, Y. V. (Org.) **Recent Advances in Micro and Macroalgal Processing**: John Wiley & Sons, Ltd. p. 72-95, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/9781119542650.ch3>>.

SHREADAH, M. A. *et al.* Phytochemical and pharmacological screening of *Sargassum vulgare* from Suez Canal, Egypt. **Food Science and Biotechnology**, v. 27, n. 4, p. 963–979, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10068-018-0323-3>>.

SILVA, D. S. DA *et al.* Inhibitory potential of *Eugenia sulcata* essential oil and its nanoemulsions against *Aspergillus spp.* **Journal of Natural Pesticide Research**, v. 7, p. 100064, 2024. Disponível em: <<https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02426>>.

SINGH, C. E. ; KRITI, S.; RENU, B. *Andrographis paniculata*: Uma revisão de suas atividades fitoquímicas e farmacológicas. **Research J. Pharm. and Tech**, v. 12, n. 1, p. 891–900, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.5958/0974-360X.2019.00153.7>>.

SINGH, S. P.; SINGH, P. Effect of temperature and light on the growth of algae species: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 50, p. 431–444, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.05.024>>.

SINHA, S. *et al.* Polysaccharides from *Sargassum tenerrimum*: Structural features, chemical modification and anti-viral activity. **Phytochemistry**, v. 71, n. 2–3, p. 235–242, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2009.10.014>>.

SMITA, K. M. *et al.* Synthesis of reduced graphene oxide using methanolic extract of *Sargassum tenerrimum* and its antiproliferative activity against human colorectal adenocarcinoma HT-29 cell lines. **Biomass Conversion and Biorefinery**, 2024. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s13399-024-05485-6>>.

SOARES, A. R. *et al.* Antiviral activity of extracts from Brazilian seaweeds against herpes simplex virus. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 22, n. 4, p. 714–723, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0102-695X2012005000061>>.

SOHN, S.-I. *et al.* Phytosterols in Seaweeds: An Overview on Biosynthesis to Biomedical Applications. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 23, p. 12691, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/ijms222312691>>.

SOLANKI, R.; KHANNA, M.; LAL, R. Bioactive compounds from marine actinomycetes. **Indian J. Microbiol**, v. 48, n. 4, p. 410-431, 2008. Disponível em:

<<https://doi.org/10.1007/s12088-008-0052-z>>.

SONG, C. *et al.* Marine natural products: The important resource of biological insecticide.

Chemistry and Biodiversity, v. 18, n. 5, p. e2001020, 2021. Disponível em:

<<https://doi.org/10.1002/cbdv.202001020>>.

SOUZA, L. M. *et al.* Curcumin in formulations against *Aedes aegypti*: Mode of action,

photolarvicidal and ovicidal activity. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 31, p.

101840, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2020.101840>>.

SRIDHAR, S.; SARANRAJ, P. Antibacterial activity and qualitative phytochemical analysis of selected seaweeds from gulf of mannar region . **Journal of Experimental Sciences**, v. 1, n.

8, p. 23–26, 2010. Disponível em: <www.jexpsciences.com>.

SUGANYA, S. *et al.* New insecticides and antimicrobials derived from *Sargassum wightii* and *Halimeda gracillis* seaweeds: Toxicity against mosquito vectors and antibiofilm activity against microbial pathogens. **South African Journal of Botany**, v. 125, p. 466–480, 2019.

Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.08.006>>.

SUMAYYA, S.; MURUGAN, K. Phytochemical screening, RP-HPLC and FTIR analysis of *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty EX P.C Silva: Macro red algae. **Journal of**

Pharmacognosy and Phytochemistry, v. 6, n. 1, p. 325–330, 2017. Disponível em:

<<https://doi.org/10.1615/InterJAlgae.v23.i2.40>>.

TONG, Q. *et al.* Pheophorbide A–Mediated Photodynamic Therapy potentiates checkpoint

blockade therapy of tumor with low PD–L1 expression. **Pharmaceutics**, v. 14, n. 11, p. 2513,

2022. Disponível em:< <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14112513>>.

TRIVEDI, S. *et al.* Insecticidal, antibacterial and dye adsorbent properties of *Sargassum*

muticum decorated nano-silver particles. **South African Journal of Botany**, v. 139, p. 432–

441, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.03.002>>.

TZIVELEKA, L. A. *et al.* Metabolites with antioxidant activity from marine macroalgae.

Antioxidants, v. 10, n. 9, p. 1431, 2021. Disponível em: <

<https://doi.org/10.3390/antiox10091431>>.

UENOJO, M.; MARÓSTICA, M. R.; PASTORE, G. M. Carotenóides: propriedades,

aplicações e biotransformação para formação de compostos de aroma. **Química Nova**, v. 30,

n. 3, p. 616–622, 2007. Disponível em:< [https://doi.org/10.1590/S0100-](https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000300022)

[40422007000300022](https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000300022)>.

- UMMAT, V. *et al.* Advances in pre-treatment techniques and green extraction technologies for bioactives from seaweeds. **Trends in Food Science and Technology**, v. 110, p. 90–106, 2021. Disponível em: < <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.01.018> >.
- URREA-VICTORIA, V. *et al.* Photosynthetic pigments and photoprotective metabolites of Colombian pacific marine macroalgae in response to contrasting ultraviolet-index periods. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 564, p. 151908, 2023. Disponível em: < <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2023.151908> >.
- VASEGHI, G. *et al.* Cytotoxicity of *Sargassum angustifolium* partitions against breast and cervical cancer cell lines. India: **Advanced biomedical research**, v. 7, p. 43, 2018. Disponível em: < https://doi.org/10.4103/abr.abr_259_16 >.
- VEGA, J. *et al.* Mycosporine-like amino acids from red macroalgae: UV-photoprotectors with potential cosmeceutical applications. **Applied Sciences**, v. 11, n. 11, p. 5112, 2021. Disponível em: < <https://doi.org/10.3390/app11115112> >.
- VENKATESAN, M. *et al.* Antioxidant, anticoagulant and mosquitocidal properties of water soluble polysaccharides (WSPs) from Indian seaweeds. **Process Biochemistry**, v. 84, p. 196–204, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.procbio.2019.05.029>>.
- VIDAL, A. *et al.* Composición química y actividad antioxidante del alga marina roja *Bryothamnion triquetrum* (S.G.Gmelin) Howe. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 42, n. 4, p. 589-600, 2006. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1516-93322006000400015>>.
- VIDAL NOVOA, A. J.; *et al.* Hepatoprotective properties from the seaweed *Bryothamnion triquetrum* (S . G . Gmelin) M. A. Howe against CCl₄ -induced oxidative. **Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research**, v. 7, n. 1, p. 31–46, 2019. Disponível em: <<https://repositorio.butantan.gov.br/handle/butantan/2648>>.
- VINOTH, S. *et al.* Anti-larvicidal activity of silver nanoparticles synthesized from *Sargassum polycystum* against mosquito vectors. **Journal of Cluster Science**, v. 30, n. 1, p. 171–180, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10876-018-1473-4>>.
- WANG, Y. *et al.* Sensitivity of *Escherichia coli* to seaweed (*Ascophyllum nodosum*) phlorotannins and terrestrial tannins. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 22, n. 2, p. 238–245, 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.5713/ajas.2009.80213>>.
- WALDETENSAI, A. **Guideline for efficacy testing of mosquito larvicides**. Public Health

Entomology Research Team, Ethiopia, 2017. Disponível em:<

<https://www.researchgate.net/publication/336871420>>.

WEKRE, M. E. *et al.* Quantification of polyphenols in seaweeds: A case study of *Ulva intestinalis*. **Antioxidants**, v. 8, n. 12, p. 612, 2019. Disponível em:<

<https://doi.org/10.3390/antiox8120612>>.

WHO. World Health Organization. **Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides**. WHO/CDS/WHOPES/GCDPP/2005.13, p. 41, 2005. Disponível em:<

<https://www.who.int/publications/i/item/WHO-CDS-WHOPES-GCDPP-2005.13>>.

WON, K.-J. *et al.* Haplophytin-A induces caspase-8-mediated apoptosis via the formation of death-inducing signaling complex in human promyelocytic leukemia HL-60 cells. Ireland:

Chemico-biological interactions, v. 188, n. 3, p. 505–511, 2010. Disponível em:<

<https://doi.org/10.1016/j.cbi.2010.09.001>>.

XU, M. *et al.* Alginate microgels as delivery vehicles for cell-based therapies in tissue engineering and regenerative medicine. **Carbohydrate Polymers**, v. 266, p. 118128, 2021.

Disponível em:< <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118128>>.

YANG, Y. *et al.* Identification and characterization of marine seaweeds for biocompounds production. **Environmental Technology & Innovation**, v. 24, p. 101848, 2021. Disponível

em: < <https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.101848> >.

YAP, W. F. *et al.* Decoding antioxidant and antibacterial potentials of Malaysian green seaweeds: *Caulerpa racemosa* and *Caulerpa lentillifera*. **Antibiotics**, v. 8, n. 3, 2019.

Disponível em: < <https://doi.org/10.3390/antibiotics8030152>>.

YENDE, S. R.; HARLE, U. N.; CHAUGULE, B. B. *et al.* Therapeutic potential and health benefits of *Sargassum* species. **Pharmacognosy Reviews**, v. 8, n. 15, p. 1–7, 2014.

Disponível em: < <https://doi.org/10.4103/0973-7847.125514> >.

YEO, M.; JUNG, W. K.; KIM, G. Fabrication, characterisation and biological activity of phlorotannin-conjugated PCL/β-TCP composite scaffolds for bone tissue regeneration.

Journal of Materials Chemistry, v. 22, n. 8, p. 3568–3577, 2012. Disponível em:

<<https://doi.org/10.1039/C2JM14725D>>.

YIN, G. *et al.* Modification of PEG-b-PCL block copolymer with high melting temperature by the enhancement of POSS crystal and ordered phase structure. **RSC Advances**, v. 5, n. 42, p. 33356–33363, 2015. Disponível em:<<https://doi.org/10.1039/c5ra01971k>>.

YU, K. X. *et al.* Larvicidal activity, inhibition effect on development, histopathological alteration and morphological aberration induced by seaweed extracts in *Aedes aegypti* (Diptera: *Culicidae*). **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 8, n. 12, p. 1006–1012, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.apjtm.2015.11.011>>.

YUAN, Y. V. Potential biological activities associated with algal derived compounds. *In*: RAJAURIA, G.: YUAN, Y. V. (Org.) **Recent Advances in Micro and Macroalgal Processing**. John Wiley & Sons, Ltd, p. 209–230, 2021. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1002/9781119542650>>.

ZARE, Pariya *et al.* Alginate sulfate-based hydrogel/nanofiber composite scaffold with controlled Kartogenin delivery for tissue engineering. **Carbohydrate Polymers**, v. 266, p. 118123, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118123>>.

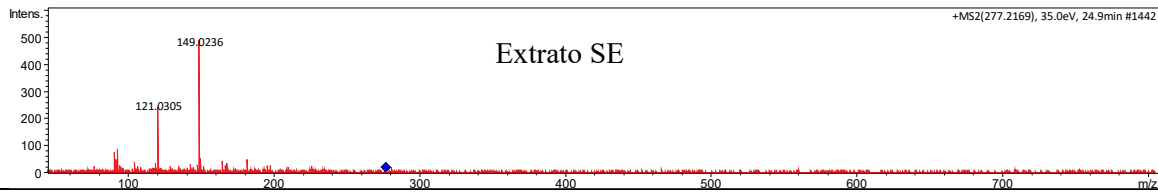
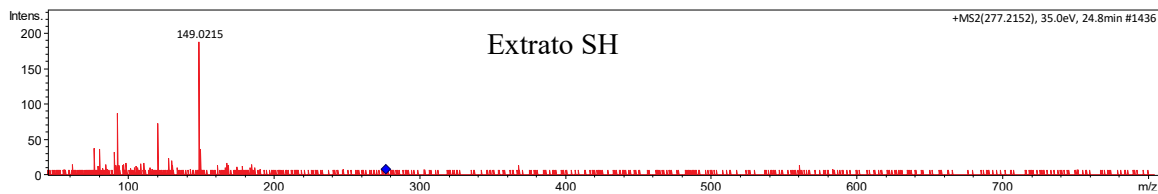
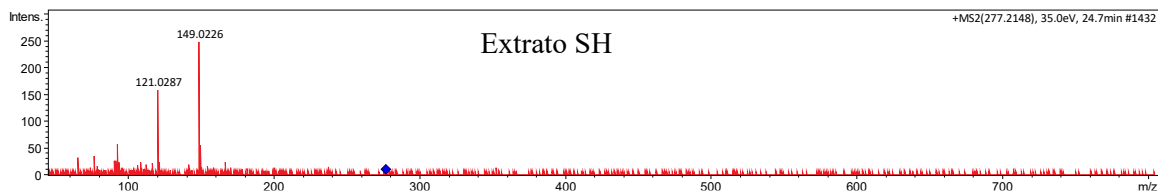
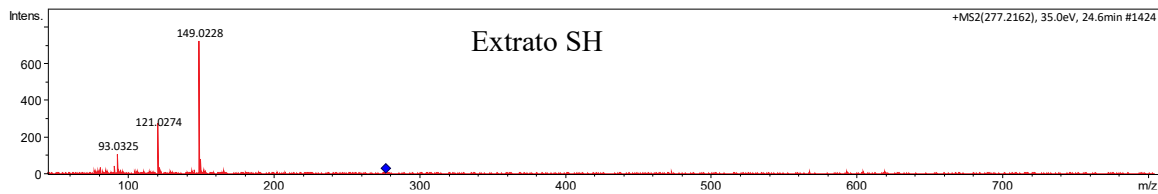
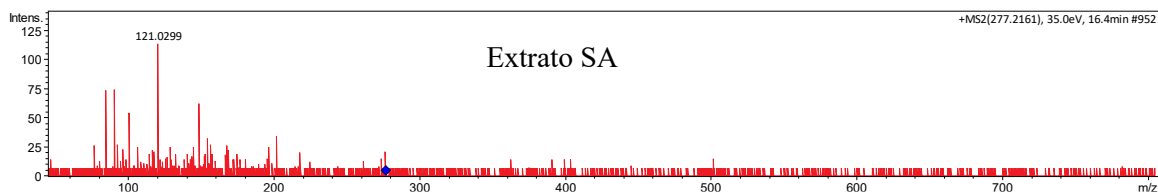
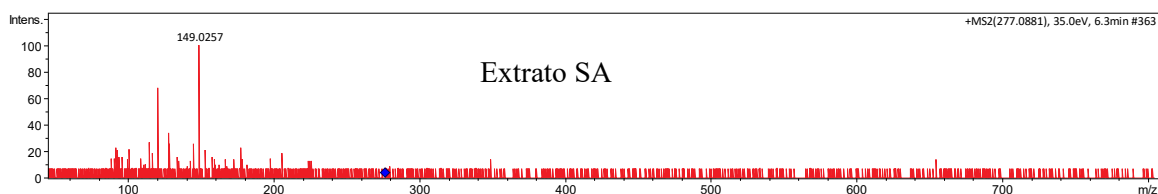
ZOLOTAREVA, E. K.; MOKROSNOP, V. M.; STEPANOV, S. S. Polyphenol compounds of macroscopic and microscopic algae. **International Journal on Algae**, v. 21, n. 1, p. 5–24, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1615/InterJAlgae.v21.i1.10>>.

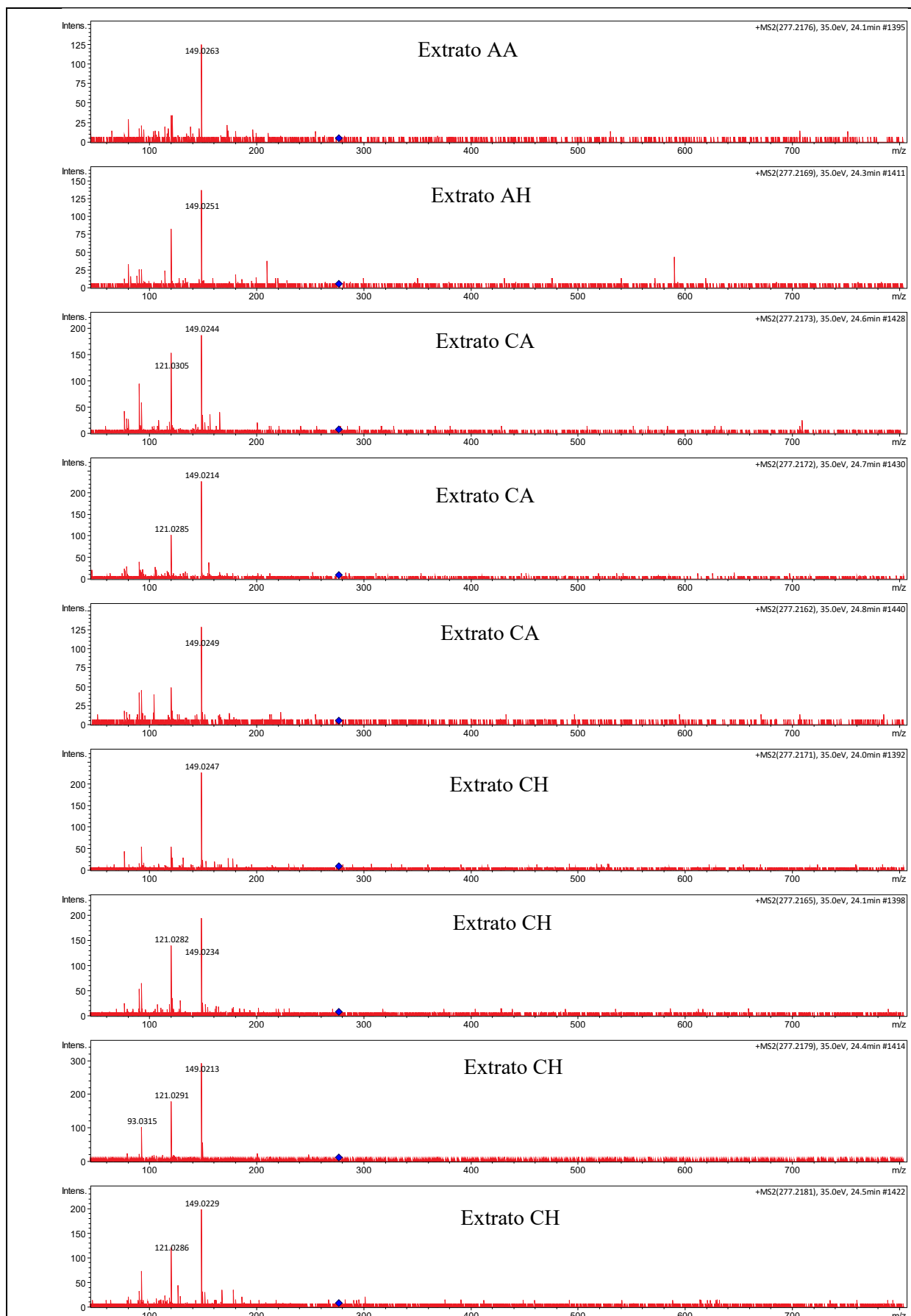
Apêndice

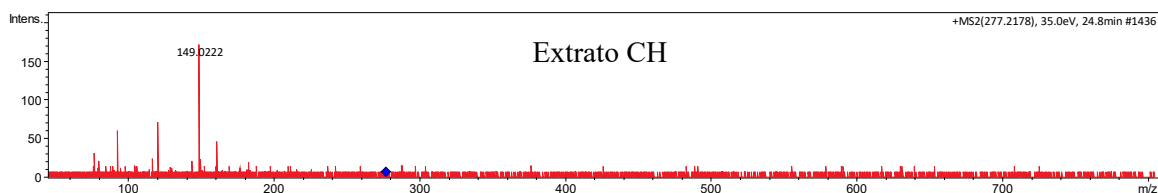
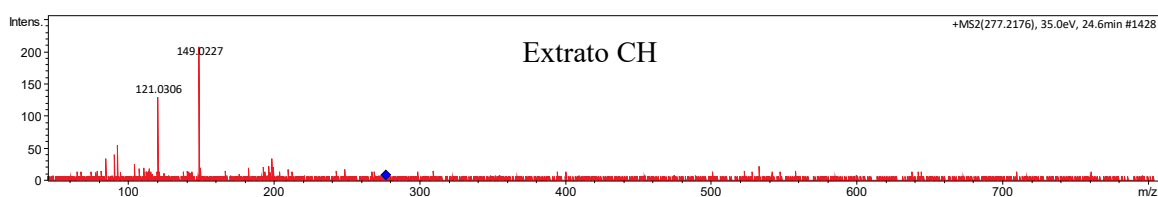
APÊNDICE A- Espectros MS/MS do íon padrão molecular detectado por LC-MS/MS em modo positivo para os extratos das algas *Sargassum vulgare*, *Alsidium triquetrum* e *Caulerpa Racemosa*

01 Ácido estearidônico^{1, 2, 4, 7, 8, 9}

IUPAC: (6Z,9Z,12Z,15Z)-6,9,12,15-Octadecatetraenoic acid

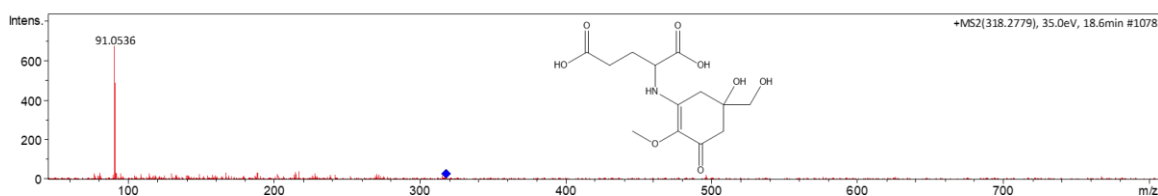






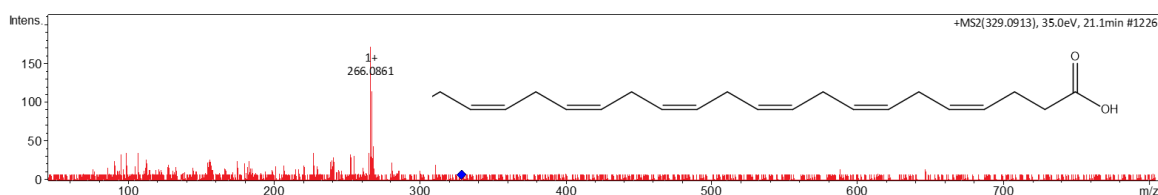
02 **Micosporina - ácido glutâmico¹**

IUPAC: 2-((5-hydroxy-5-(hydroxymethyl)-2-methoxy-3-oxocyclohex-1-en-1-yl)amino)pentanedioic acid



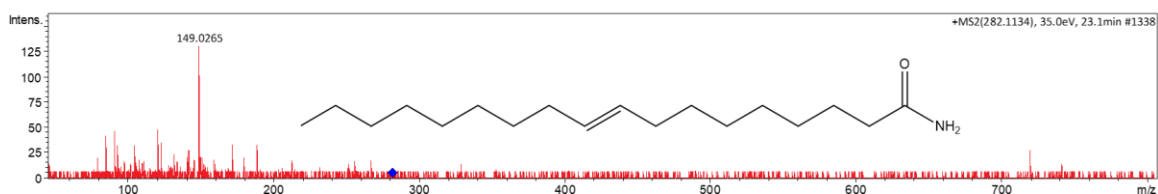
03 **Ácido docosa-hexaenoico¹**

IUPAC: (4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)-4,7,10,13,16,19-Docosahexaenoic acid



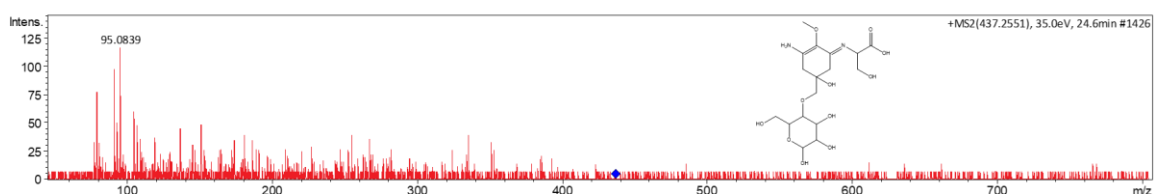
04 **9-Octadecenamida¹**

IUPAC: (E)-octadec-9-enamide



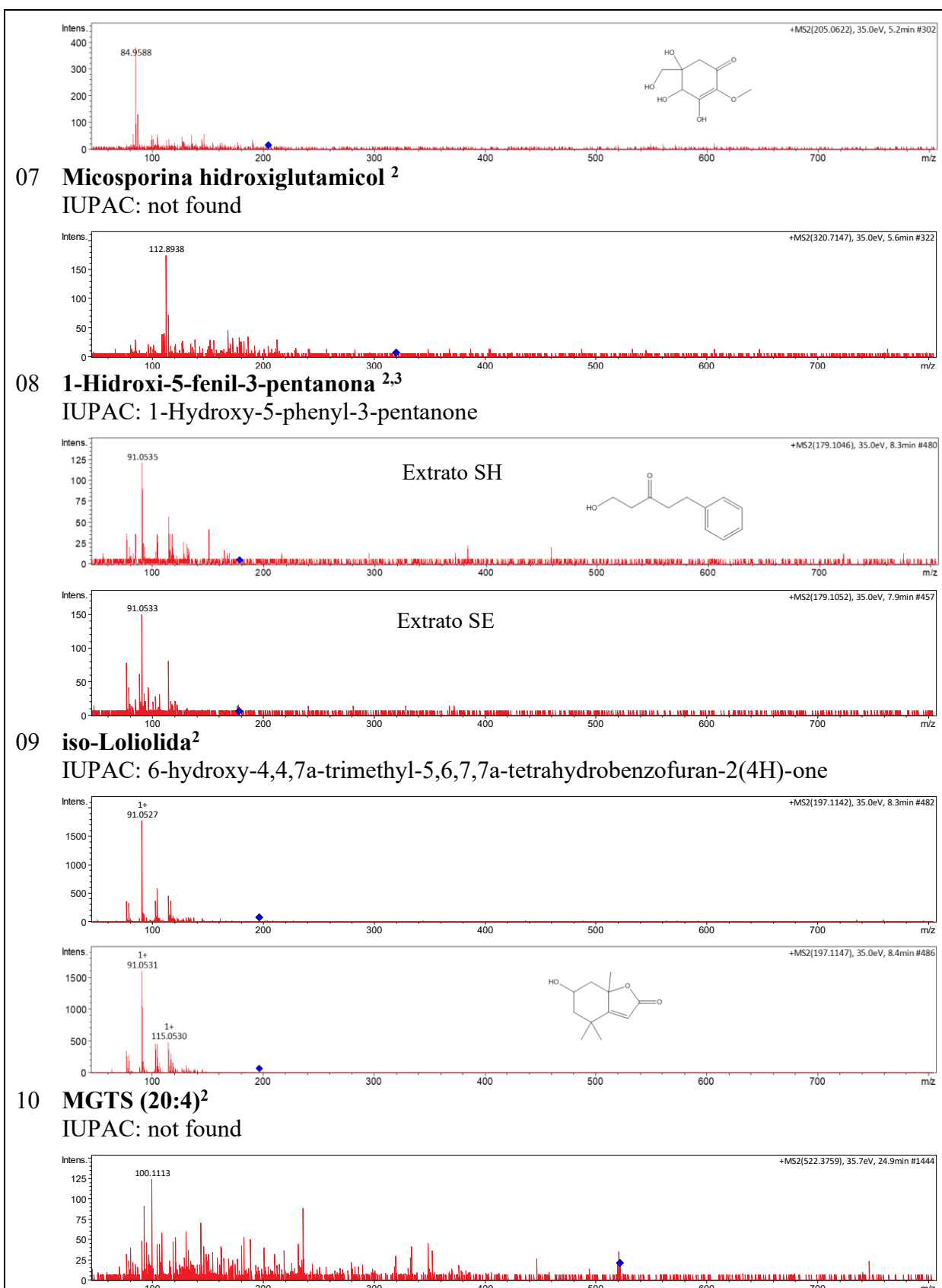
05 **Hexose-palitina-serina¹**

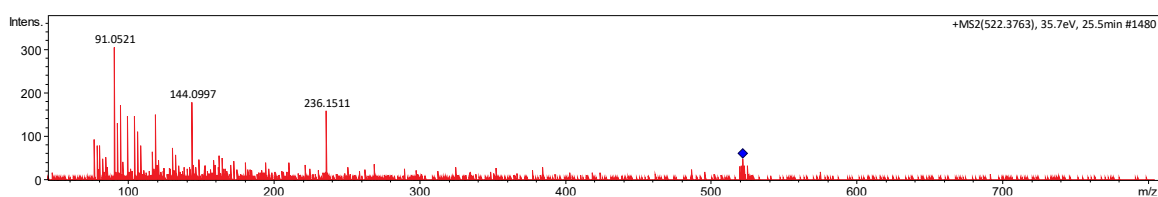
IUPAC: (E)-2-((3-amino-5-hydroxy-2-methoxy-5-(((4,5,6-trihydroxy-2-(hydroxymethyl)tetrahydro-2H-pyran-3-yl)oxy)methyl)cyclohex-2-en-1-ylidene)amino)-3-hydroxypropanoic acid



06 **Gadusol²**

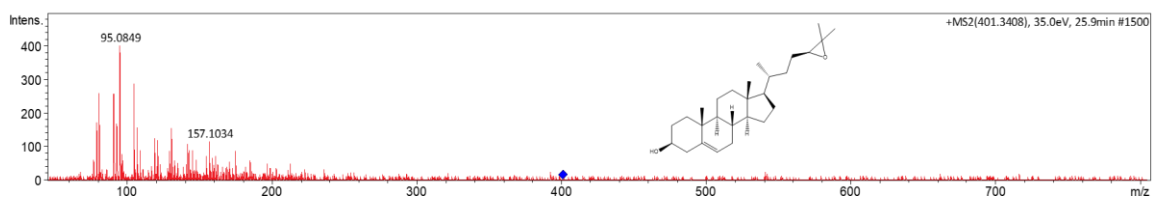
IUPAC: 3,4,5-trihydroxy-5-(hydroxymethyl)-2-methoxycyclohex-2-en-1-one





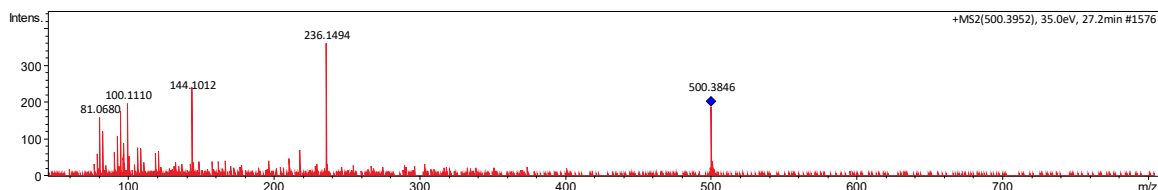
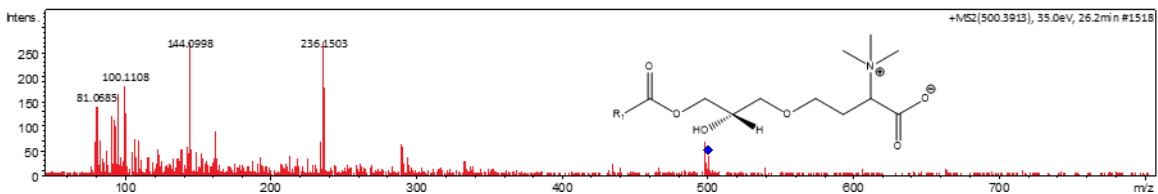
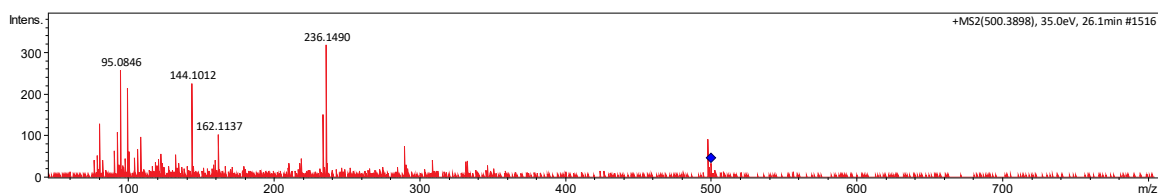
11 **24,25-Epóxi-colesterol ²**

IUPAC: (3*S*,8*S*,9*S*,10*R*,13*R*,14*S*,17*R*)-17-[(2*R*)-4-[(2*S*)-3,3-dimethyloxiran-2-yl]butan-2-yl]-10,13-dimethyl-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahydro-1*H*-cyclopenta[*a*]phenanthren-3-ol



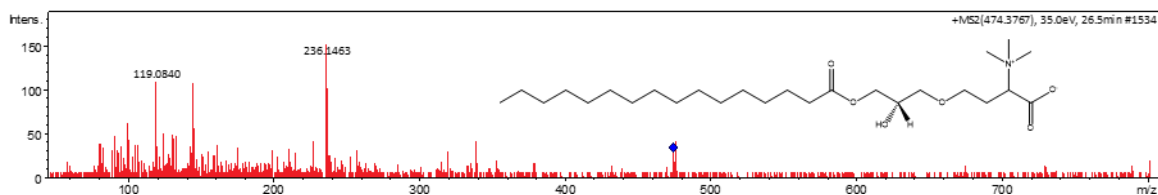
12 **MGTS (18:1)²**

IUPAC: not found



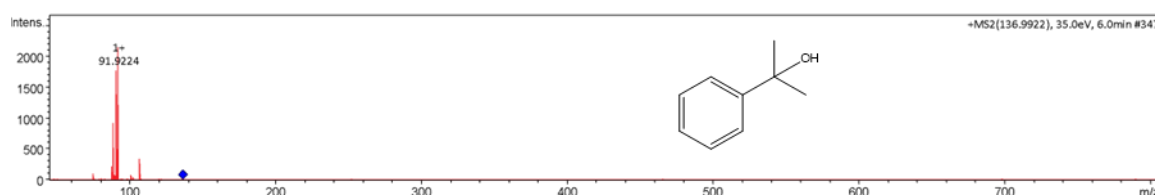
13 **MGTS (16:0)²**

IUPAC: 1-hexadecanoil-sn-glicero-3-O-(N,N,N-trimetil)-homoserina



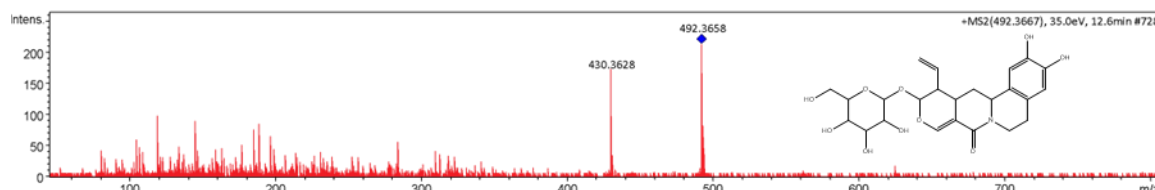
14 **Álcool α-cumílico ³**

IUPAC: 2-Phenyl-2-propanol



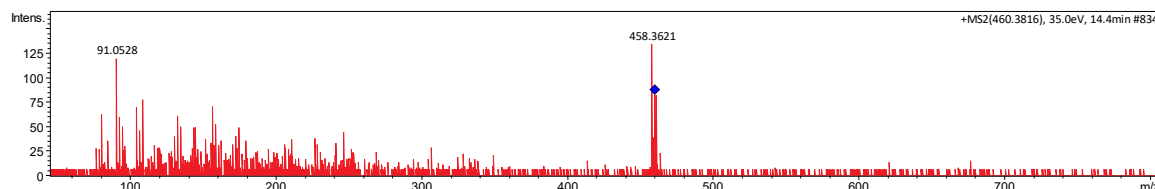
15 **Desmetilalangisida** ³

IUPAC: 2,3-dihydroxy-11-((3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy)-12-vinyl-5,6,12,12a,13,13a-hexahydropyrano[4',3':4,5]pyrido[2,1-a]isoquinolin-8(11H)-one



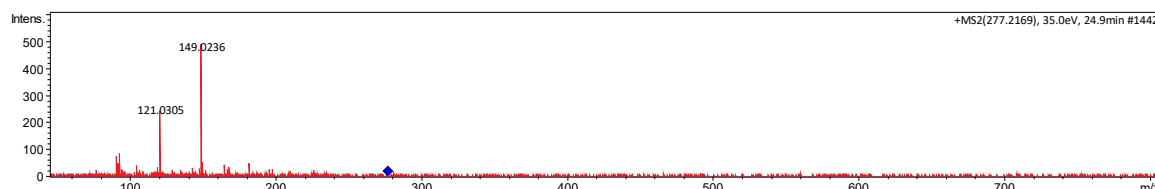
16 **Militarinona a** ³

IUPAC: 5-(1,4-dihydroxycyclohexyl)-1,4-dihydroxy-3-[(2E,4E,6E,8R,10R)-6,8,10-trimethyldodeca-2,4,6-trienoyl]pyridin-2-one



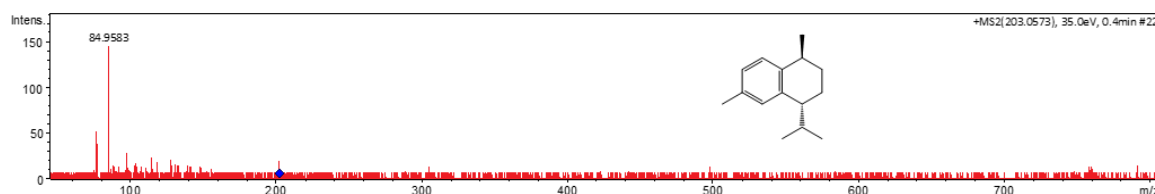
17 **ácido 6-fosfogluconico** ³

IUPAC: (2R,3S,4R,5R)-2,3,4,5-tetrahydroxy-6-phosphonooxyhexanoic acid



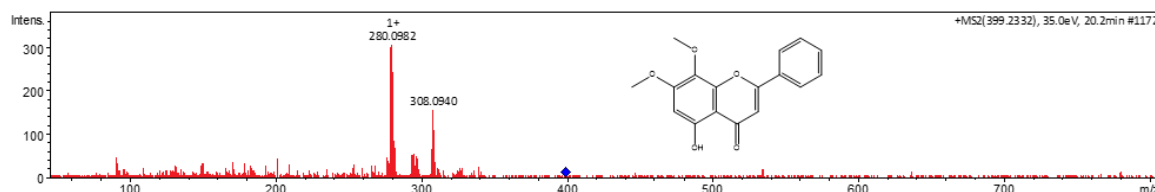
18 **trans-Calamenene** ⁴

IUPAC: (1S,4R)-1,6-dimethyl-4-propan-2-yl-1,2,3,4-tetrahydronaphthalene



19 **7-O-Metilwogonina** ⁴

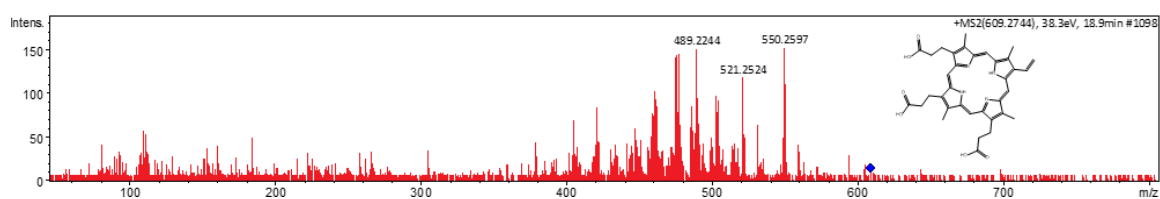
IUPAC: 5-Hydroxy-7,8-dimethoxy-2-phenyl-4-chromenone



20 **Harderoporfirina** ^{4,7}

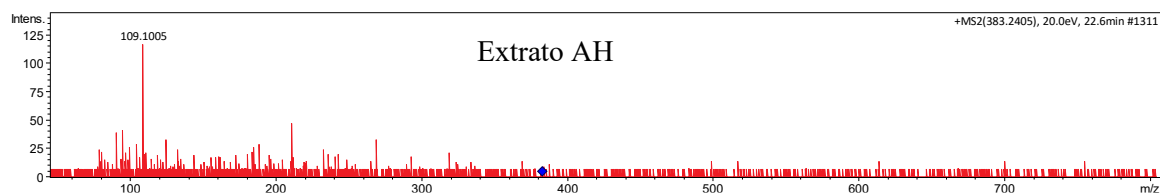
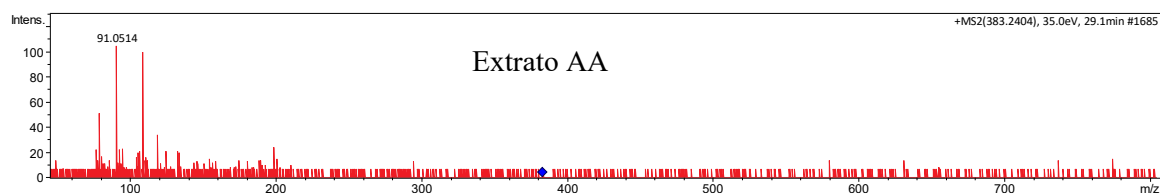
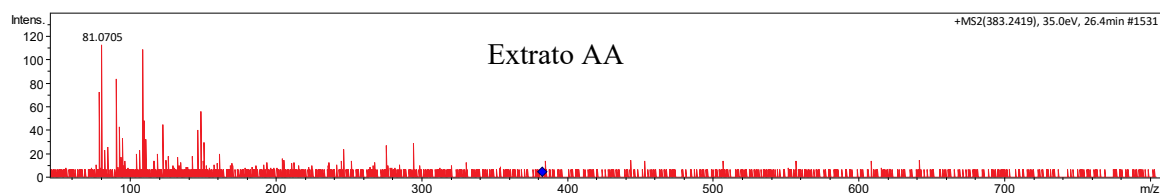
IUPAC: 3-[7,18-bis(2-carboxyethyl)-12-ethenyl-3,8,13,17-tetramethyl-21,23-dihydroporphyrin-2-yl]propanoic acid 1,4,6,8(26),9,11,13(25),14,16,18(24),19-undecaen-22-yl]propanoic acid

21 15 - hidroxilactona feoforbídeo-a⁴



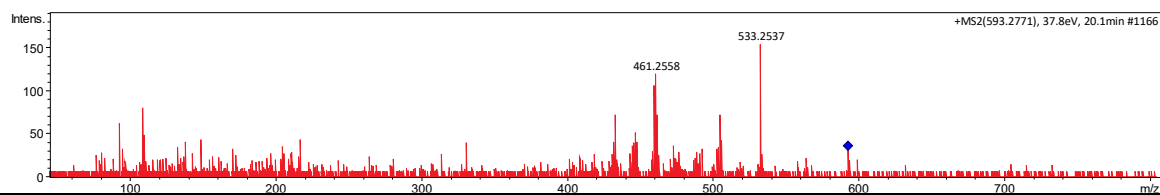
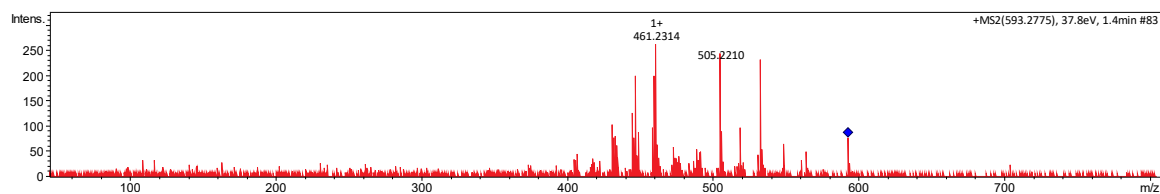
22 Catenelline^{4,5}

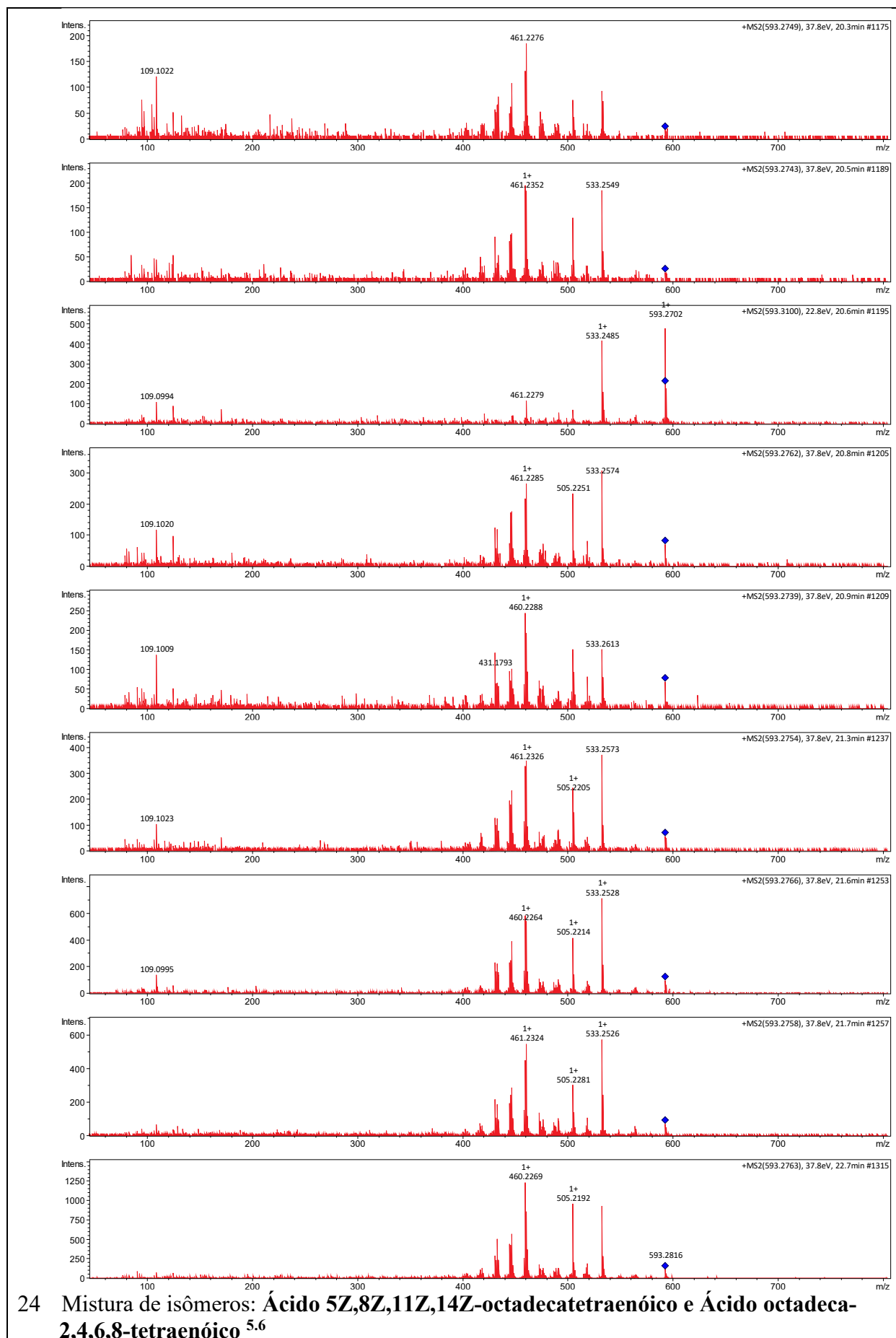
IUPAC: (E)-3-hydroxy-2-((5-hydroxy-5-(hydroxymethyl)-2-methoxy-3-((2-sulfoethyl)amino)cyclohex-2-en-1-ylidene)amino)propanoic acid



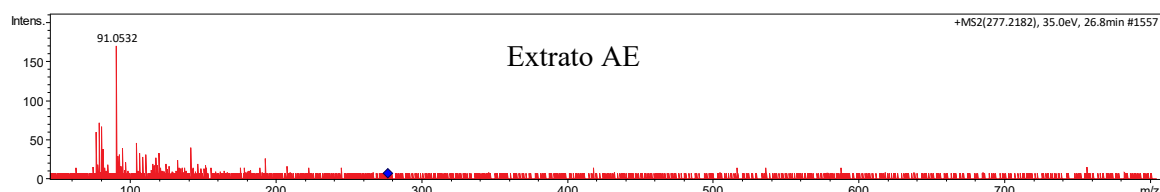
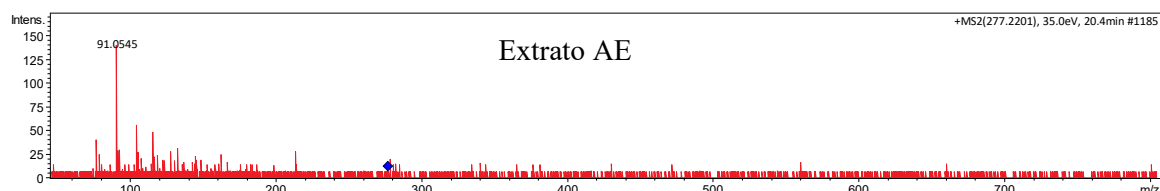
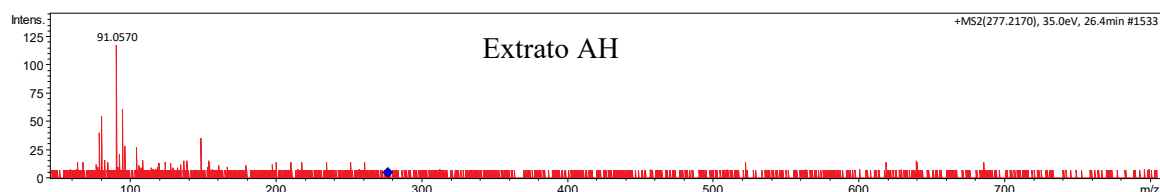
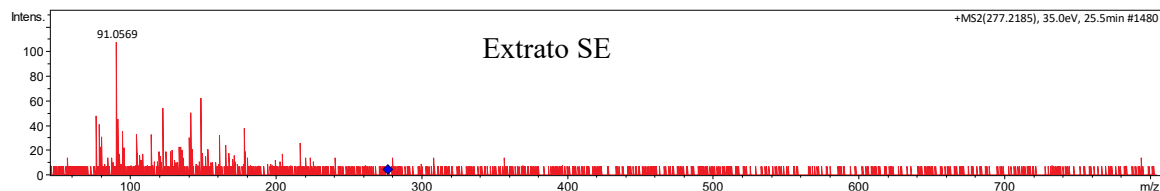
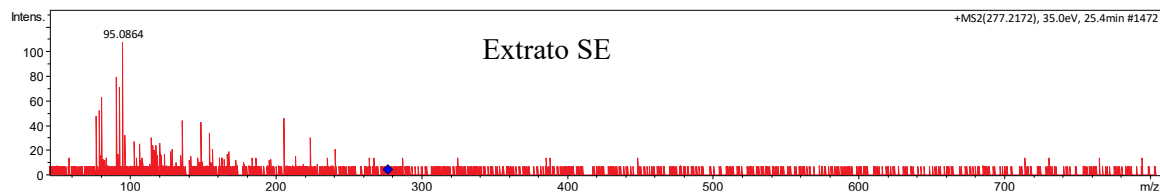
23 Feoforbida a⁵

IUPAC: (3S,4S,21R)-9-Ethenyl-14-ethyl-21-(methoxycarbonyl)-4,8,13,18-tetramethyl-20-oxo-3-phorbinepropanoic acid



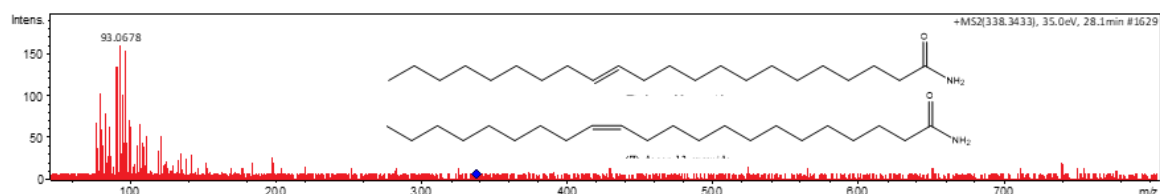


IUPAC: (5Z,8Z,11Z,14Z)-octadeca-5,8,11,14-tetraenoic acid; e (2E,4E,6E,8E)-octadeca-2,4,6,8-tetraenoic acid



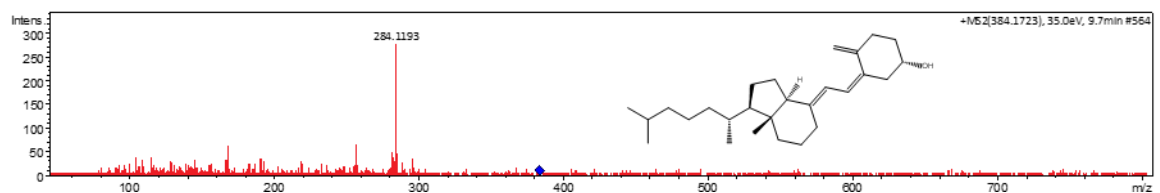
25 Misturas de isômeros **13-Docosenamida e Erucamida** ⁵

IUPAC: (E)-docos-13-enamida e (Z)-docos-13-enamida



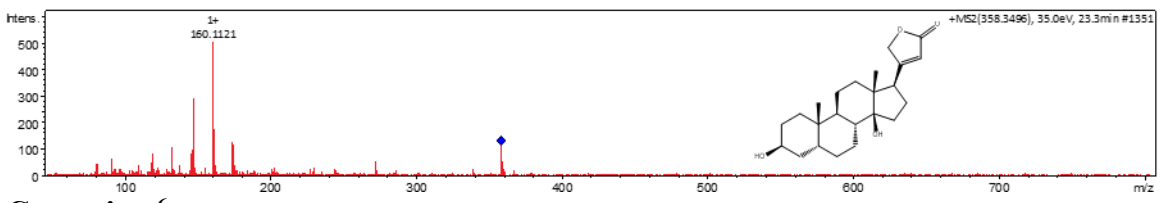
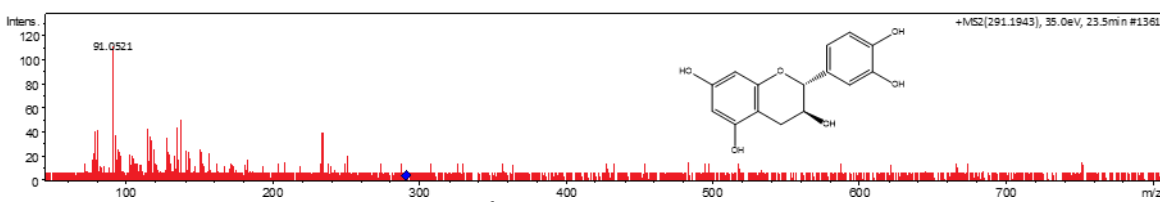
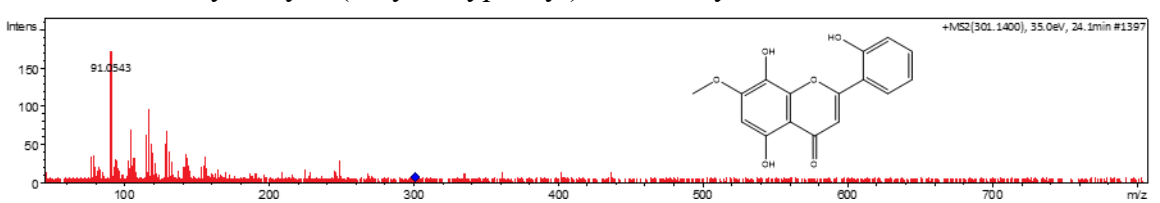
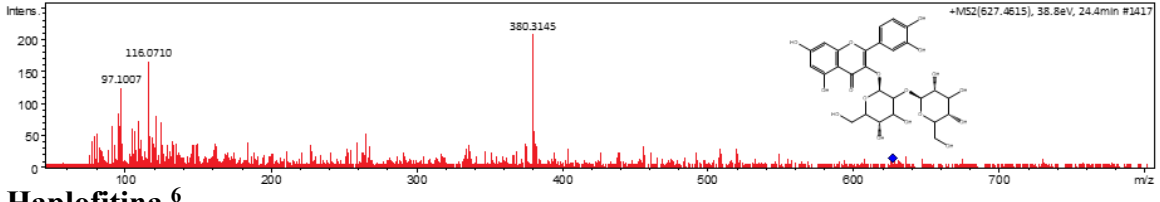
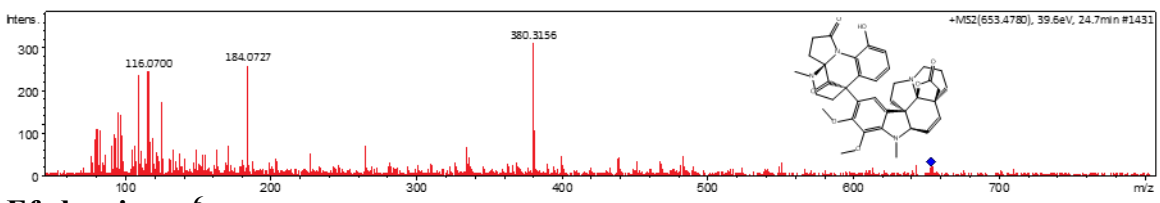
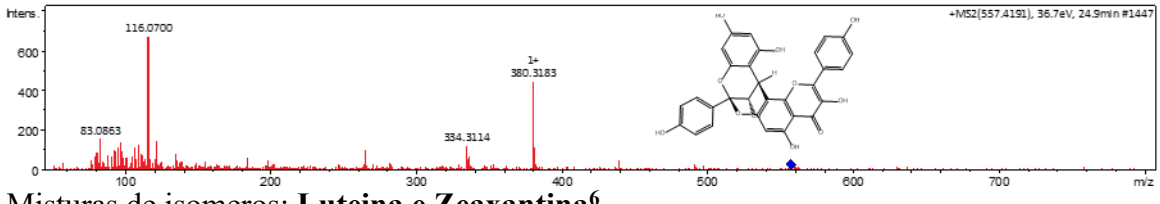
26 Colecalciferol ⁶

IUPAC: (1S,3Z)-3-[(2E)-2-[(1R,3aS,7aR)-1-[(1R)-1,5-dimethylhexyl]-7a-methyloctahydro-4H-inden-4-ylidene]ethylidene]-4-methylenecyclohexanol

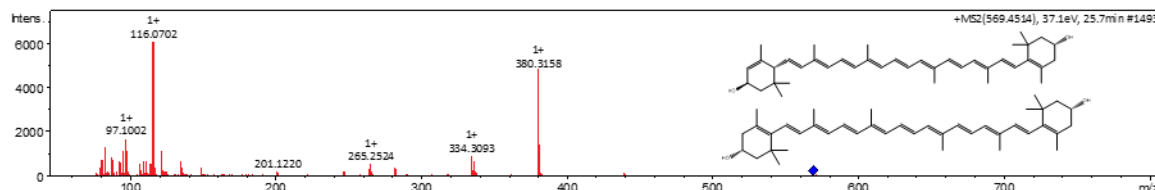


27 Digitoxigenina ⁶

IUPAC: (3β,5β)-3,14-Dihydroxycard-20(22)-enolide

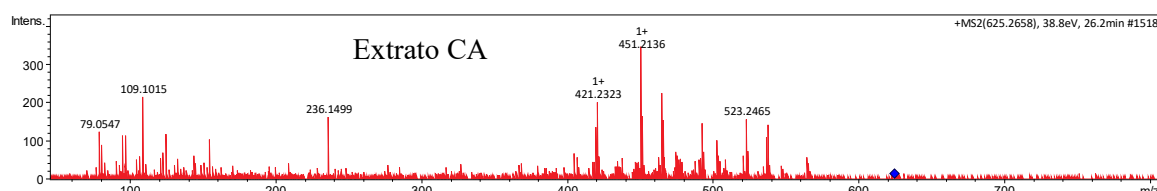
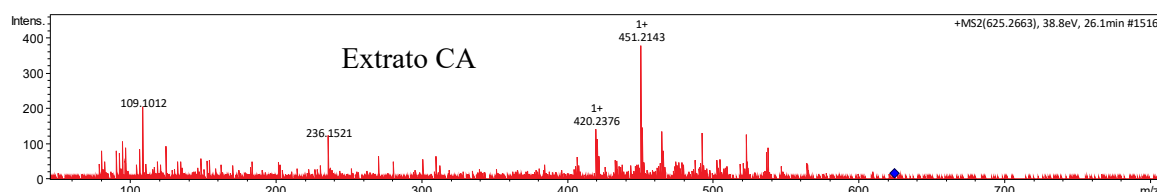
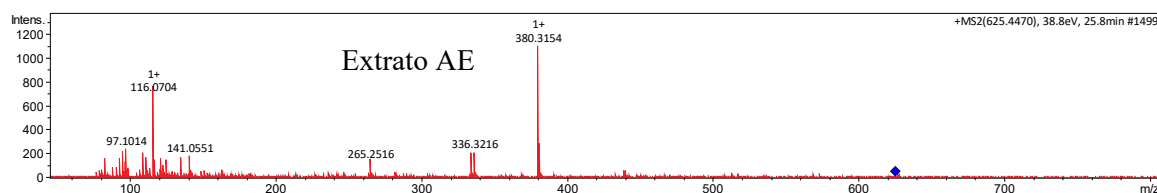
- 28 **Catequina** ⁶
IUPAC: (2R,3S)-2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-3,5,7-chromanetriol
- 
- 29 **5,8,2'-Tri-hidroxi-7-metoxiflavona** ⁶
IUPAC: 5,8-dihydroxy-2-(2-hydroxyphenyl)-7-methoxychromen-4-one
- 
- 30 **Quercetina 3-soforosídeo** ⁶
IUPAC: 3-[(2S,5S)-4,5-dihydroxy-6-(hydroxymethyl)-3-[(2S,3R,5S)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxyoxan-2-yl]oxy-2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxychromen-4-one
- 
- 31 **Haplofitina** ⁶
IUPAC: (1S,12R)-12-[(1S,4R,12R,16S)-7,8-dimethoxy-5-methyl-18-oxo-17-oxa-5,15-diazahexacyclo[13.4.3.0^{1,16}.0^{4,12}.0^{6,11}.0^{12,16}]docosa-2,6,8,10-tetraen-9-yl]-7-hydroxy-15-methyl-5,15-diazatetracyclo[10.3.1.0^{1,5}.0^{6,11}]hexadeca-6(11),7,9-triene-4,16-dione
- 
- 32 **Efedranina a** ⁶
IUPAC: (1S,13R,21S)-6,9,17,19,21-pentahydroxy-5,13-bis(4-hydroxyphenyl)-4,12,14-trioxapentacyclo[11.7.1.02,11.03,8.015,20]henicosa-2(11),3(8),5,9,15,17,19-heptaen-7-one
- 
- 33 **Misturas de isômeros: Luteína e Zeaxantina** ⁶
- 

IUPAC: (1R,4R)-4-[(1E,3E,5E,7E,9E,11E,13E,15E,17E)-18-[(4R)-4-Hydroxy-2,6,6-trimethyl-1-cyclohexen-1-yl]-3,7,12,16-tetramethyl-1,3,5,7,9,11,13,15,17-octadecanonaen-1-yl]-3,5,5-trimethyl-2-cyclohexen-1-ol e (1R,1'R)-4,4'-[(1E,3E,5E,7E,9E,11E,13E,15E,17E)-3,7,12,16-Tetramethyl-1,3,5,7,9,11,13,15,17-octadecanonaen-1,18-diyl]bis(3,5,5-trimethyl-3-cyclohexen-1-ol)



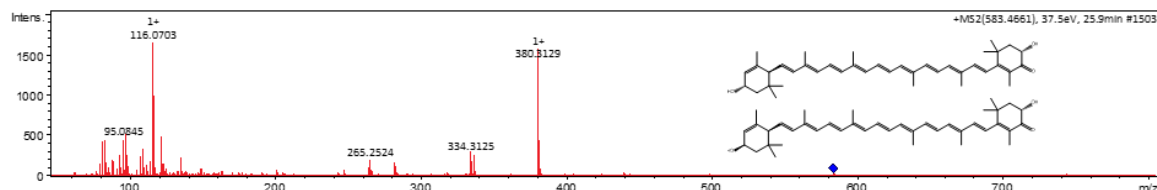
34 13-Hidroxil-Clorofila c^{6,7}

IUPAC: A name could not be generated for this structure



35 Misturas de isômeros: 4-Cetoluteína D e Cetoluteína F⁶

IUPAC: (R)-6-hydroxy-3-((1E,3E,5E,7E,9E,11E,13E,15E,17E)-18-((1R,4S)-4-hydroxy-2,6,6-trimethylcyclohex-2-en-1-yl)-3,7,12,16-tetramethyloctadeca-1,3,5,7,9,11,13,15,17-nonaen-1-yl)-2,4,4-trimethylcyclohex-2-enone e (R)-6-hydroxy-3-((1E,3E,5E,7E,9E,11E,13E,15E,17E)-18-((1R,4R)-4-hydroxy-2,6,6-trimethylcyclohex-2-en-1-yl)-3,7,12,16-tetramethyloctadeca-1,3,5,7,9,11,13,15,17-nonaen-1-yl)-2,4,4-trimethylcyclohex-2-enone

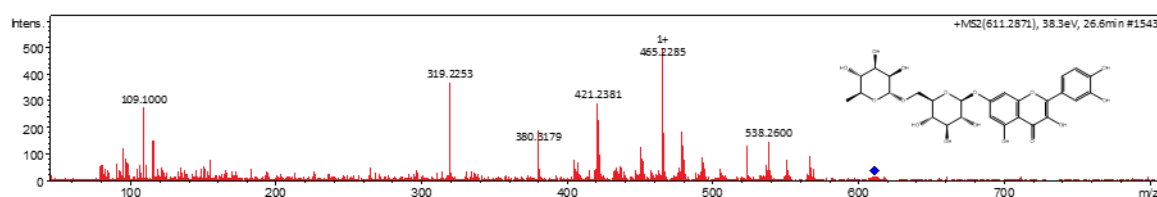


36 Quercetina-7-o-rutinosídeo ⁶

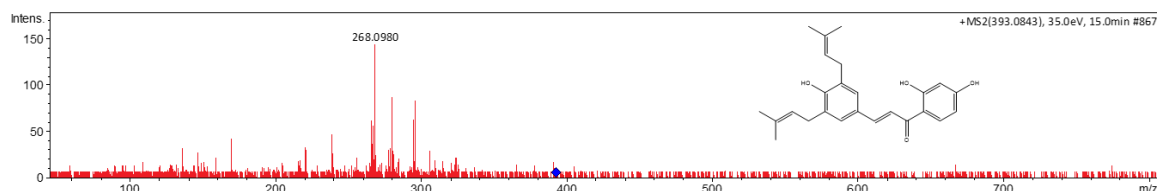
IUPAC: 2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,5-dihydroxy-7-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-[[[(2R,3R,4R,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxymethyl]oxan-2-yl]oxychromen-4-one

37 **Abissinona VI**⁷

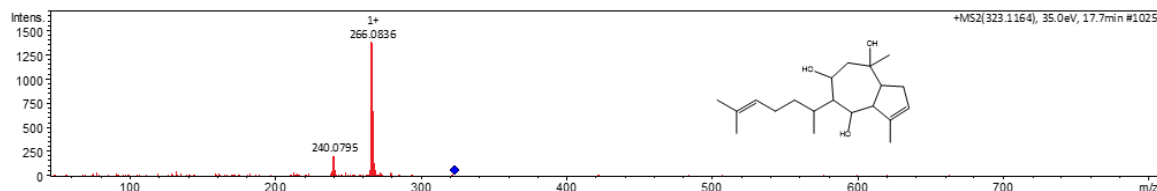
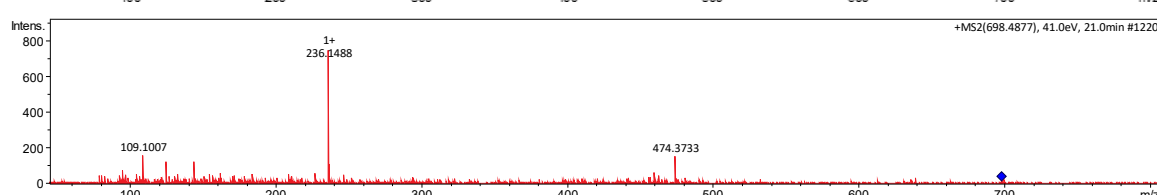
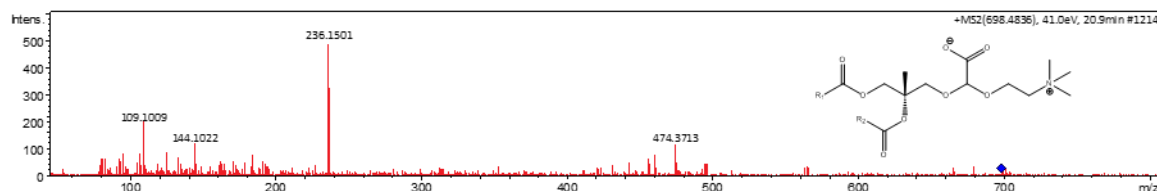
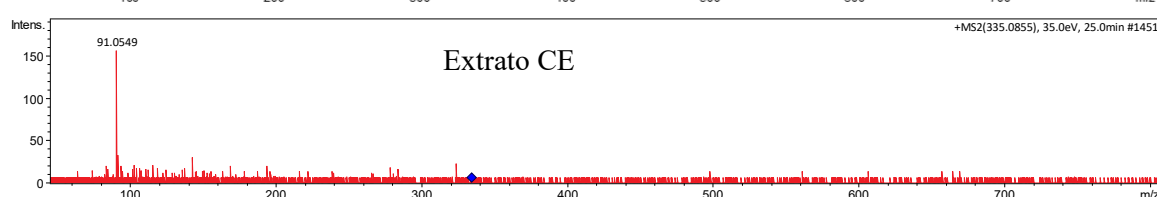
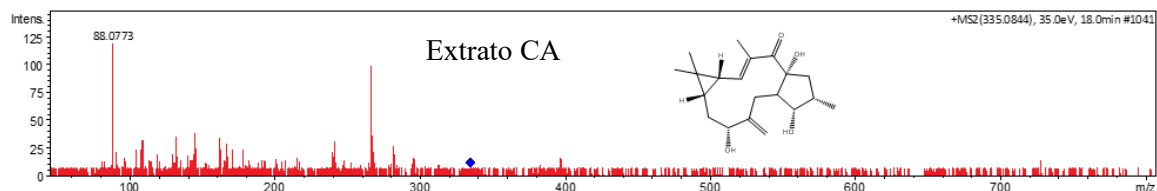
IUPAC: (*E*)-1-(2,4-dihydroxyphenyl)-3-[4-hydroxy-3,5-bis(3-methylbut-2-enyl)phenyl]prop-2-en-1-one

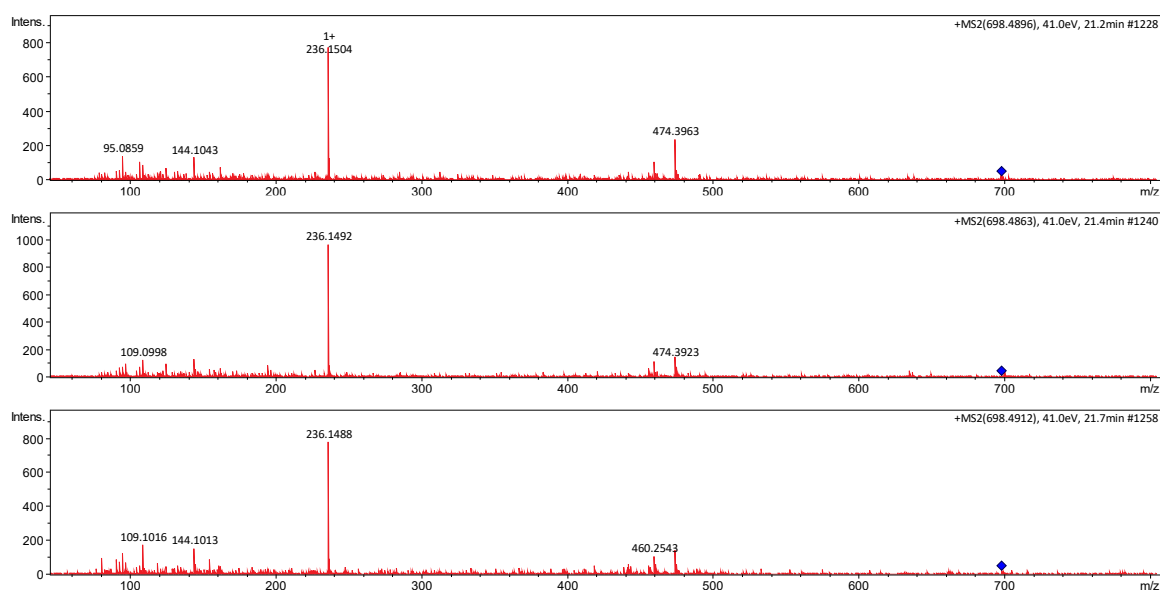
38 **Dictyotatriol A**^{7,9}

IUPAC: 3,8-dimethyl-5-(6-methylhept-5-en-2-yl)-1,3a,4,5,6,7,8,8a-octahydroazulene-4,6,8-triol

39 **7beta-hidroxilatirol**^{7,9}

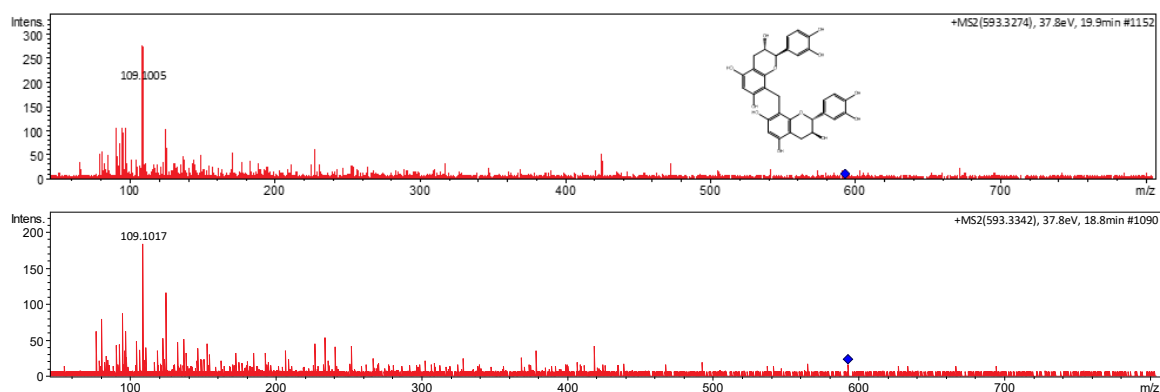
IUPAC: (1*R*,5*R*,7*S*,9*R*,13*S*,14*S*)-1,9,13-trihydroxy-3,6,6,14-tetramethyl-10-methylidenetricyclo[10.3.0.0^{5,7}]pentadec-3-en-2-one

40 **DGCC (29:2;O)**⁷



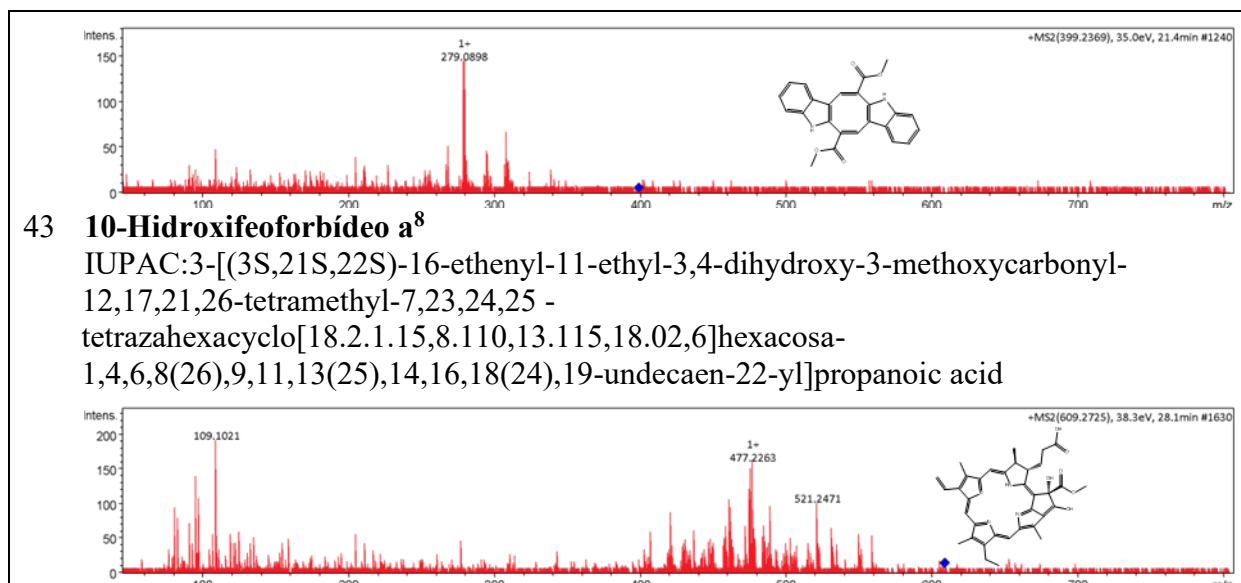
41 **8,8'-Metilenobiscatequina**⁸

IUPAC: (2R,3S)-2-(3,4-dihydroxyphenyl)-8-[[[(2R,3S)-2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxy-3,4-dihydro-2H-chromen-8-yl]methyl]-3,4-dihydro-2H-chromene-3,5,7-triol



42 **Caulerpin**⁸

IUPAC: dimethyl (2E,13E)-11,22-diazapentacyclo[13.7.0.04,12.05,10.016,21]docosa-1(15),2,4(12),5,7,9,13,16,18,20-decaene-2,13-dicarboxylate



MS/MS identificado nos extratos: ¹SA; ²SH; ³SE; ⁴AA; ⁵AH; ⁶AE; ⁷CA; ⁸CH e ⁹CE

APÊNDICE B – Dados de Massa dos extratos não identificados

Quadro 1: Dados dos compostos não identificados dos respectivos extratos aquoso, hidroalcoólico e etanólico da alga *S. vulare*.

Nº	RT (min)	[M + H] ⁺ Observado	MS/MS
1	5.6	182.9619	99, 83, 127
3	6.4	313.0488	79.61
4	17.2	292.2131	91
5	19.3	327.1148	240, 266
6	22.3	371.1019	265, 310
7	23.1	281.1061	91, 149
8	26.4	507.3697	95
9	27.5	467.3750	93
10	27.6	521.3756	109
11	27.7	677.4915	109
12	25.5 28.5	550.6425	109, 298
13	28.9	681.4785	109, 227, 399
14	27.1	493.3868	109

Nº	RT (min)	[M + H] ⁺ Observado	MS/MS fragmentos
01	22.9	505.3502	105
	27.3		81
	28.5-28.8		91, 93
02	5.6	262.7563	113
03	17.7-18.2	442.3666	93, 95, 105, 107, 119, 145, 159, 213, 442, 444
04	21.1, 21.4, 21.9	514.3679	100, 134, 144, 236, 514, 298
05	21.5-21.7, 22.2-22.3	516.3818	95, 100, 144, 236, 498
06	23.9 - 24.1- 24.2, 24.4, 24.6, 24.9- 25-25.3	741.6110	95, 97, 109, 116, 155, 265, 334, 334, 380, 439, 741
07	24.3	472.3605	100, 236
08	24.4-24.5	446.3467	81, 100
09	25-25.2, 26.1	498.3777	81, 93, 95, 100, 144, 162, 236
10	29.7	743.6231	95, 109, 380
11	26.6, 26.9, 27.4, 27.6- 17.8, 29.2- 29.3, 29.9	493.7831	91, 93, 95, 109, 211
12	4.9	182.9614	87, 127
13	5-5.1	200.9723	85
14	5.2	273.0301	127
15	17.6	274.2751	263

Nº	RT (min)	*[M+H] ⁺ Observed	Íons MS/MS
01	8.0- 8.1	197.1155	91, 115
02	5.1	172.9320	87, 133
03	6.8, 7.2	133.0999	92
04	13.4	476.3705	
05	13.5 14.3	458.3615	458
06	17.6- 17.7	318.1983	102, 88
07	17.8	442.3661	93, 157
08	17.9	362.3260	102
10	20.3- 20.4 28.2	437.1929	105
11	21.4- 21.5, 21.8	514.3708	100, 236
12	22.2	528.2094	117, 238
13	24.3	385.3414	93
14	24.6 27.9	556.4140	136
15	25.1	520.4357	100, 447
16	25.4	505.3565	105
17	25.8	498.3616	95
18	27.1- 27.2	630.4676	100, 474
19	27.4 27.6	644.4716	95, 144, 119
20	28.1 28.3	512.5048	283
21	25.7	521.3718	100, 137,

Quadro 2: Dados dos compostos não identificados dos respectivos extratos aquoso, hidroalcoólico e etanólico da alga *Alsidium triquetrum*

Nº	RT (min)	[M + H] ⁺ Observado	MS/MS fragmentos
01	4.9	182.9617	83, 87, 127, 145
02	6.3-6.4	312.0752	91, 105
03	6.4-6.8	161.0958	77, 91, 103
04	6.6-6.7	220.1329	91, 115, 143, 144
05	7.0	188.0686	89, 115
06	12.8	327.1147	240, 266
07	14-14.02	313.0971	240, 266
08	20.8	395.2436	280
09	21.87, 24.1 24.9, 26.5 - 26.6, 26.8, 27.4-27.5 28.4, 28.8, 30	493.3874	86,95, 109, 184
10	25.9-26, 26.4, 26.6, 26.9, 27.1, 27.4, 27.8, 28, 28.6, 29, 29.2, 29.5	467.3690	81, 95, 109
11	27-27.1	701.4882	109, 131, 701
12	27.2-27.3, 28.8, 29.6- 29.7	505.3496	95, 109
13	27.5, 27.7	750.5810	109, 236, 474
14	27.9	409.3661	165
15	28.2-28.3	550.6244	298, 550
16	5.2	145.0338	85

Nº	RT (min)	[M + H] ⁺ Observado	MS/MS fragmentos
01	0.2	467.3732	109
02	5.0-5.1	182.9607	87, 127
03	6.1	259.1988	94, 112
04	6.6 6.7	312.1445	91
05		227.1286	382
06	25.0 25.1	571.4328	116, 380
07	25.1 25.4	457.3998	116
08	25.8 28.6 28.9 29.2	467.3739	81, 109
09	27.4	704.5450	109
10	26.8 27.1 27.5 28.9	493.3890	109
11	28.5	724.5805	236

Nº	RT (min)	[M+H] ⁺ Observado	ions MS/MS
01	6.1	259.2029	94, 112
02	9.7 9.9	384.1723	284
03	10.9 11.1	284.1174	114, 140
04	13.0-13.4 14.2-14.5	388.1773	105, 296
05	19.6 19.8	587.4277	81, 116, 378
06	21.1-21.2	613.4551	116
07	22.2	394.3475	
08	22.2	395.2417	105
09	22.6-23.0	344.3331	147
10	23.3	479.3858	95
11	23.8- 23.9	505.4250	81
12	24.2 24.8	708.5781	91, 109
13	24.3 24.6	683.4831	380,109
14	24.4-24.5 24.7	645.4723	95, 116, 380
15	25.5	555.4383	116, 380
16	25.1-25.2	571.4328	116, 380
17	25.6	581.4522	97,116, 380
18	26.1 26.3	561.4879	95, 135
19	25.6 26.0	581.4522	116, 380
20	26.4	621.4852	116, 380
21	27.3	467.3729	109
22	27.7 27.9 29.8	493,3882	95, 81, 109
23	27.8	677.4881	109, 515

Quadro 3: Dados dos compostos não identificados dos respectivos extratos aquoso, hidroalcoólico e etanólico da alga *C. racemosa*.

Nº	RT (min)	[M + H] ⁺ Observado	Ions MS/MS
01	22.3, 25.1, 25.6, 26, 27.6, 28.6- 28.9, 29.2, 29.4, 29.6	493.3897	81, 86, 91 95, 109, 125, 184, 109, 95
01	24.1, 25, 25.7, 25.9, 26.4, 27.4, 27.7, 28.4, 28.7, 29.3, 29.8	467.3739	109, 109, 81, 95
03	5.0-5.3	182.9626	83, 87, 127
04	5.3-5.4	190.0520	87, 127, 145
05	5.4	206.0257	85
06	6.0-6.1	439.1422	190
07	12.5, 14.5- 14.7	327.1141	240, 266, 267
08	13.9-14.4	313.0972	240, 266
09	14.5-14.6, 15.3, 16.9- 17	309.1009	240, 266
10	15.1	324.0903	266
11	15.1	353.0928	279
12	17.1-17.2	326.1057	240, 266
13	19.9, 20.2, 20.5-20.6, 21.6, 22.1, 22.4, 22.8	628.4816	109, 144, 236, 313, 390, 474
14	24.4-24.5	658.4904	109, 162, 236, 402, 474
15	26.3, 24.6, 26.7-26.8	654.4972	95, 109, 184, 236, 313, 416, 474
16	26.6	505.3522	93
17	26.9-27	656.5102	109, 236, 313, 400, 416, 474
18	27.1	673.5033	109, 236, 474
19	27.2	672.5048	95, 236, 474
20	27.4-27.6, 28	708.5786	109, 135, 171, 223
21	28	666.4998	109, 236, 474
22	15.1	353.0928	279

Nº	RT (min)	*[M+H] ⁺ Observed	Ions MS/MS
01	4.8	182.9626	83, 127
02	5.1, 5.2	190.0512	87, 145, 127
03	5.3	206.0263	85
04	5.6	439.0270	80, 190
05	9.6	357.0897	265, 293
06	12-12.1, 14.5- 14.6, 14.8	327.1147	240, 266
07	12.1, 12.3, 15.8, 15.9, 16.0	371.1015	91, 265, 310
08	13.0	331.1104	266
09	13.7-13.8	313.0981	241, 266
10	14.6-14.7, 16.9-17.0	309.1038	240, 266
11	15.6, 16.7, 16.9	227.1272	95, 130
12	16.2, 21.4	399.2381	296, 279
13	17.1, 17.2, 29.0	326.1084	240, 266
14	25.1, 28.1	505.3554	95
15	25.6	644.4763	236
16	26.3	343.1082	128, 228, 255, 282
17	26.5, 26.6	628.4797	109, 236, 390, 468, 474
18	27.1, 28.3	491.3748	109
19	27.8	645.3688	109
20	27.9, 29.4	675.4857	109
21	28.4, 28.5, 28.6	654.4912	109, 236, 467, 483
22	22.9, 23.0	238.2433	164
23	23.4, 27.0 - 27.2	493.3907	81, 95, 109, 447, 505, 533
24	23.4	521.3511	109

Nº	RT (min)	*[M+H] ⁺ Observed	Ions MS/MS
01	5.5-5.6	182.9635	83, 87, 127, 145
02	5.7-5.8	190.0505	87, 145
03	18.7, 22.5	318.2783	91, 88
04	19.3- 19.4, 21.2, 21.3	327.1190	240, 266
05	19.6- 19.7	371.1058	197, 265, 293
06	20.8- 20.9	313.1005	266
07	21.1	285.1046	91, 256
08	21.3, 22.8	309.1056	240, 266
09	23	326.1081	240, 266
10	23.4, 24.5	399.2369	266, 280
11	24.8	267.1109	95
12	25.3, 26.3, 26.5, 26.7- 26.8, 27.2, 27.5, 27.8- 28.1, 28.9, 29.1- 29.2, 29.5- 29.8	467.3789	81, 91, 95, 109
14	26.5, 27, 27.8	505.3536	107, 109, 151
15	27.4- 27.5	645.4766	95, 236, 406, 474
16	27.7	675.4886	109, 277
17	28.2- 28.3	629.4792	95, 109 135, 296
18	28.5	651.4874	109, 227, 399
19	28.6, 29	491.3699	79, 109

APÊNDICE C – Artigos Publicados com ação inseticida

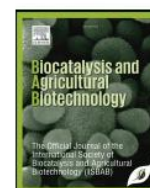
Biocatalysis and Agricultural Biotechnology 63 (2025) 103461



Contents lists available at ScienceDirect

Biocatalysis and Agricultural Biotechnology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/bab



Phytochemical, cytotoxic, and insecticidal effects of crude extracts of the alga *Alsidium triquetrum* (SGGmelin) Trevisan on *Aedes aegypti*

Katiane Cruz Magalhaes Xavier^a, Dayane Kelly Dias do Nascimento Santos^a, Rômulo Carlos Dantas da Cruz^b, Lidiane Quêrolin Macena da Silva^b, Alex Michel Silva Araújo^b, PatryckÉrmerson Monteiro dos Santos^c, Larissa Araújo Rolim^d, Patrícia Maria Guedes Paiva^c, Ivone Antônia de Souza^b, Severino Alves Júnior^{a,*}

^a Department of Fundamental Chemistry, Center for Natural Sciences, Federal University of Pernambuco, Av. Jorn. Aníbal Fernandes, s/n - Cidade Universitária, 50740-560, Recife, Pernambuco, Brazil

^b Department of Antibiotics, Biosciences Center, Federal University of Pernambuco, Av. Arthur de Sá, 50740-521, Recife, Pernambuco, Brazil

^c Department of Biochemistry, Biosciences Center, Federal University of Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego, 13 s/n, 50.670-420, Recife, Pernambuco, Brazil

^d Drug, Medicine and Food Analysis Center, Federal University of Vale do São Francisco, Av. José de Sá Maniçoba, s/n - Centro Petrolina, 56304-205, Petrolina, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:

Seaweeds
Larvicides
Aedes aegypti
Liquid chromatography-mass spectrometry
Phytochemical analysis
Cytotoxicity

ABSTRACT

Aedes aegypti, the yellow fever mosquito, is the main vector of several arboviruses. It represents a public health problem and can develop resistance to chemical insecticides over time, requiring new formulations of ecologically friendly larvicides for its control. Seaweed is an abundant source of phytochemicals with diverse chemical compositions and is a prospective natural alternative to commercial insecticides. In this study, we aimed to investigate the larvicidal efficacy of the seaweed *Alsidium triquetrum* against *Ae. aegypti* by evaluating the toxic, morphological, and enzymatic effects of the ethanolic (AE) and hydroalcoholic (AH) extracts of the seaweed. The chemical composition of the extracts was evaluated using high-performance liquid chromatography and liquid chromatography coupled with high-resolution mass spectrometry, and the toxic effects were investigated by assessing the larvicidal activity, morphology of the larvae, and *in vitro* toxicity, along with enzymatic tests. The AH and AE extracts comprised primary and secondary metabolites, including amino and fatty acids and other compounds. The insecticidal bioassays showed larvicidal potential against *Ae. aegypti* at all concentrations tested, reaching 100% mortality in 24 h for both extracts. Morphological analysis of the larvae showed damage to the abdomen, changes in colour, disruption of the midgut, and loss of gill leaflets. The extracts stimulated similar activity for the enzymes amylase, trypsin, and acetylcholine esterase at concentrations above 0.5 µg mL⁻¹. The cytotoxicity of the algal extracts *in vitro* indicated non-toxicity

* Corresponding author.

E-mail addresses: katiane.xavier@ufpe.br (K.C. Magalhaes Xavier), nascimento.d.k.d@gmail.com (D.K. Dias do Nascimento Santos), romulo.carlos@hotmail.com (R.C. Dantas da Cruz), idesouza5@gmail.com (L.Q. Macena da Silva), alex.michel@ufpe.br (A.M. Silva Araújo), patryck.santos@ufpe.br (P.M. Santos), larissa.rolim@univasf.edu.br (L.A. Rolim), patricia.paiva@ufpe.br (P.M. Guedes Paiva), lidiane.querolin@ufpe.br (I. Antônia de Souza), severino.alvesjr@ufpe.br (S.A. Júnior).

<https://doi.org/10.1016/j.bcab.2024.103461>

Received 10 July 2024; Received in revised form 24 November 2024; Accepted 4 December 2024

Available online 15 December 2024

1878-8181/© 2024 Elsevier Ltd. All rights are reserved, including those for text and data mining, AI training, and similar technologies.

<https://doi.org/10.1016/j.parint.2025.103031>



Contents lists available at ScienceDirect

Parasitology International

journal homepage: www.elsevier.com/locate/parint

Insecticidal effects of *Sargassum vulgare* and *Caulerpa racemosa* extracts on *Aedes aegypti*

Katiane Cruz Magalhães Xavier^a, Dayane Kelly Dias do Nascimento Santos^a,
Rômulo Carlos Dantas da Cruz^b, Lidiane Quérolin Macena da Silva^b, Alex Michel Silva Araújo^b,
Patryck Érmerson Monteiro dos Santos^c, Patrícia Maria Guedes^c, Larissa Araújo Rolim^d,
Danilo Cesar Galindo Bedor^e, Severino Alves Júnior^{a,*}

^a Department of Fundamental Chemistry, Center for Natural Sciences, Federal University of Pernambuco, Av. Jorn. Aníbal Fernandes, s/n - Cidade Universitária, 50740-560 Recife, Pernambuco, Brazil

^b Department of Antibiotics, Biosciences Center, Federal University of Pernambuco, Av Arthur de Sá, 50740-521 Recife, Pernambuco, Brazil

^c Department of Biochemistry, Biosciences Center, Federal University of Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego, 13 s/n, 50, 670-420 Recife, Pernambuco, Brazil

^d Drug, Medicine and Food Analysis Center, Federal University of Vale do São Francisco, Av. José de Sá Maniçoba, s/n - Centro Petrolina, 56304-205 Petrolina, Brazil

^e Department of Pharmaceutical Sciences, Pharmaceutical and Cosmetic Development Center, Federal University of Pernambuco, Brazil, Recife, PE 50740-521, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:

S. vulgare

C. racemosa

Larvicides

Chemical composition

Cellular cytotoxicity

ABSTRACT

Dengue is a viral disease present in many regions of the world. *Aedes aegypti* transmits it, and the most effective way to eliminate the mosquito is during the larval stage. Seaweeds possess metabolites with insecticidal properties, making them potential sources of new larvicides and viable alternatives to synthetic products used to control insect vectors of diseases. Thus, this study aimed to investigate the chemical composition, *in vitro* toxicity, and larvicidal activities of the ethanolic extract of the seaweed *Sargassum vulgare* (SE) and hydroalcoholic extract of the seaweed *Caulerpa racemosa* (CH) against *Ae. aegypti*. The chemical composition of the crude extracts was evaluated by high-performance liquid chromatography coupled with mass spectrometry (LC-MS), and toxic effects were assessed through *in vitro* cytotoxicity. The larvicidal activity was evaluated by determining mortality and lethal concentrations (LC₅₀ and LC₉₀), morphological analyses of larvae, and evaluation of the enzymatic action mechanism. The results showed that the extracts contained primary and secondary metabolites, mainly, alkaloids, terpenoids, carbohydrates, fatty acids, and chlorophyll derivatives, all of which were biocompatible at all tested concentrations (3 to 100 µg/mL). The SE and CH extracts showed larvicidal potential at all tested concentrations, achieving 95 % and 50 % mortality after 48 h. Observed changes in the external morphology of the larvae included color change, loss of bristles, and gill filaments. At the same time, the enzymatic action mechanism occurred through stimulation of amylase, trypsin, and acetylcholinesterase activities. Therefore, both seaweed extracts offering alternatives to synthetic chemical insecticides.

1. Introduction

Aedes aegypti, Linnaeus (1762), is the primary vector of arboviruses, responsible for transmitting viral agents that cause yellow fever, dengue, chikungunya, and Zika. Its high potential for pathogen transmission to

humans is due to its anthropophilic habits and reproduction in urban and peri-domestic environments, including artificial and natural containers for oviposition [1]. According to the WHO, neglected tropical diseases caused by *Ae. aegypti* are among the significant health issues in Brazil, other South American countries, and the African continent [2].

Abbreviations: DDT, dichloro-diphenyl-trichloroethane; AChE, acetylcholinesterase; DNS, 3,5-dinitrosalicylic acid; FBS, fetal bovine serum; PBS, phosphate buffered saline; BAPNA, N-benzoyl-DL-arginyl-p-nitroanilide; DTNB, 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoic acid; WHO, World Health Organization; LC-MS, liquid chromatography coupled with high-resolution mass spectrometry; CH, hydroalcoholic; SE, ethanolic; LC, lethal concentration.

* Corresponding author.

E-mail addresses: katiane.xavier@ufpe.br (K.C.M. Xavier), lidiane.querolin@ufpe.br (L.Q.M. da Silva), alex.michel@ufpe.br (A.M.S. Araújo), patryck.santos@ufpe.br (P.É.M. dos Santos), patricia.paiva@ufpe.br (P.M. Guedes), larissa.rolim@univasf.edu.br (L.A. Rolim), danilo.bedor@ufpe.br (D.C.G. Bedor), severino.alvesjr@ufpe.br (S.A. Júnior).

<https://doi.org/10.1016/j.parint.2025.103031>

Received 27 September 2024; Received in revised form 27 December 2024; Accepted 8 January 2025

Available online 13 January 2025

1383-5769/© 2025 Elsevier B.V. All rights are reserved, including those for text and data mining, AI training, and similar technologies.

<https://doi.org/10.1016/j.bcab.2024.103461>

APÊNDICE D - Resumo simplificado estilo nota de imprensa**MACROALGAS DO LITORAL PERNAMBUCANO: Caracterização e perfil fitoquímicos dos extratos etanólico, aquoso, hidroalcoólico e aplicações biotecnológicas**

Katiane Cruz Magalhães Xavier

Orientador: Prof. Dr. Severino Alves Junior

Coorientador: Dr. Rômulo Carlos Dantas da Cruz

As algas marinhas são fontes de metabólitos naturais bem diversificados permitem desempenhar uma variedade de atividades biológicas, que podem ser usadas para a obtenção de novas formulações de produtos naturais com aplicações biotecnológicas e serem alternativas para a resolução de problemas de saúde pública como a dengue. Os produtos naturais marinhos apresentam em sua composição química, haletos, sulfetos e nitretos, podendo ser mais competitivos em 'química verde' e proteção ambiental comparado aos produtos inseticidas químicos sintéticos. As algas marinhas também vêm se destacando em cosmeceuticos com efeitos de toxicidade insignificantes em humanos e exibindo fortes benefícios para a pele, como ingrediente ativo em curativo micróbio-hidrogel na promoção da proliferação celular e a cicatrização de feridas.

O litoral pernambucano possui uma grande variedade de gêneros e espécies de macroalgas com atividades praticamente inexploradas e foi o campo selecionado para identificar a composição química das espécies *Sargassum vulgare*, *Alsidium triquetrum* e *Carleupa Racemosa* e explorar potenciais atividades. Estudamos a atividade inseticida dos extratos etanólico e hidroalcoólicos das algas citadas contra larvas do mosquito da dengue e o efeito proliferativo celular na cicatrização de feridas *in vitro*.

Nossas análises demonstraram que os extratos das algas possuem atividade inseticida por alcançarem 100 % de mortalidade em 24 horas e 95% e 50% de mortalidade em 48 horas. Também foram biocompatíveis com células renais com 100% de viabilidade celular, além de apresentarem o efeito proliferativo celular, observado no ensaio de citotoxicidade celular *in vitro* que foi confirmado no pré-teste de cicatrização *in vitro* de ranhura com o fechamento da fenda pela migração celular em 24 horas. Esses resultados podem estar relacionados com a composição química dos extratos que apresentaram metabólitos bem diversificados como, clorofila, aminoácidos, ácidos graxos, flavonoides, carotenoides, vitamina, alcaloide, esteroide e outros, confirmados por análise cromatográficas e outras. As algas desse estudo, podem ser

fontes de novas formulações para o uso como inseticidas natural a materiais de uso biotecnológicos como curativo celular de feridas de difíceis cicatrização.