



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
CAMPUS UFRJ-MACAÉ
Professor Aloísio Teixeira



NATALIA SILVA RAMOS

**DESCRIÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE POLISSACARÍDEOS
SULFATADOS COM ESTRUTURA QUÍMICA ELUCIDADA DO GÊNERO
GRACILARIA: UMA REVISÃO DA LITERATURA**

**MACAÉ
2022**

NATALIA SILVA RAMOS

DESCRIÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE POLISSACARÍDEOS
SULFATADOS COM ESTRUTURA QUÍMICA ELUCIDADA DO GÊNERO
GRACILARIA: UMA REVISÃO DA LITERATURA

Trabalho de conclusão de curso (TCC)
apresentado ao Curso de Farmácia do
Centro Multidisciplinar UFRJ Macaé,
como requisito para obtenção do título de
farmacêutico.

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Paes
Cinelli.

MACAÉ

2022

CIP - Catalogação na Publicação

R175

Ramos, Natália Silva

Descrição da atividade antioxidante de polissacarídeos sulfatados com estrutura química elucidada do gênero gracilaria: uma revisão da literatura / Natalia Silva Ramos - Macaé, 2022.

90 f.

Orientador(a): Leonardo Paes Cinelli.

Trabalho de conclusão de curso (graduação) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Ciências Farmacêuticas, Bacharel em Farmácia, 2022.

1. Gracilaria. 2. Estrutura química. 3. polissacarídeos sulfatados.
4. Alga marinha. I. Cinelli, Leonardo Paes, orient. II. Título.

CDD 615

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca com os
dados fornecidos pelo(a) autor(a)
Biblioteca Central do Centro Multidisciplinar UFRJ-Macaé
Bibliotecário: Anderson dos Santos Guarino CRB7 – 5280

Natalia Silva Ramos

Descrição da atividade antioxidante de polissacarídeos sulfatados com estrutura química elucidada do gênero *Gracilaria*: uma revisão da literatura

Trabalho de conclusão de curso (TCC) defendido e aprovado como requisito para obtenção do título de farmacêutico.

Macaé, 20 de Dezembro de 2022.

Comissão avaliadora:

Prof. Dr. Leonardo Paes Cinelli

UFRJ-Macaé – ICF Farmácia

<http://lattes.cnpq.br/7785991878476659>

Prof. Dr. Michelle Frazão Muzitano

UFRJ-Macaé – ICF Farmácia

<http://lattes.cnpq.br/6637126351943749>

Prof. Dr. Bianca B. Costa da Silveira

CNEC/biomedicina

<http://lattes.cnpq.br/6383701336342063>

AGRADECIMENTOS

Enfim chegou o dia que eu tanto sonhei e esperei, eu gostaria de agradecer primeiramente a Deus pois sem ele nada disso seria possível, cada dia me dava mais forças para continuar todas as vezes que pensei em desistir, sem ele nada disso seria possível, enfrentar tudo que passei, todas as dificuldades, nervosismo, desesperos, perrengues, enfim minha maior força sem dúvidas veio dele, só ele sabe o que eu passei nesses anos durante toda minha trajetória na faculdade.

Segundo, quero agradecer meus pais por tudo que fizeram por mim durante todos esses anos, toda paciência, carinho, amor, dedicação, sem dúvidas foram essenciais durante todo esse tempo e obrigada por acreditar em mim, sempre me afirmar que eu sou capaz e merecedora de tudo isso, não foi nada fácil, mas eu sempre tive o sonho de dá o maior orgulho possível para vocês e luto muito por isso todos os dias, tudo isso foi por vocês.

Meus irmãos que eu sempre digo que são minhas inspirações, agradeço por estar sempre me dando os melhores conselhos, espero muito me tornar uma profissional capacitada como vocês, minha vó por todo carinho que tem por mim sempre. Sem dúvida tudo que eu fiz foi por vocês minha família, todas as vezes que pensava em desistir e pensava no orgulho que gostaria de dar para todos vocês e isso me motivava a continuar sempre.

Durante esses 5 anos eu passei por experiências que nunca imaginei passar, mas o sonho que eu tinha de entrar em uma universidade federal era maior que todas as dificuldades que existiram, fácil nunca foi, mais hoje eu vejo que precisava ser desse jeito para eu provar para mim que consigo, que sou capaz de sim, realizar meus sonhos por mais difícil que seja.

Agradeço também ao meu namorado pela paciência, pelas vezes que teve que me ouvir reclamar sem parar, e mesmo assim me dava forças, aos meus amigos por todo apoio sempre, pela ajuda que eu sempre precisava, minhas cunhadas pelas consultorias, quando eu precisei sempre estavam prontas para me ajudar, tenho um carinho enorme por todos vocês.

Aos meus amigos que a UFRJ me deu, com certeza vou levar todos comigo, não vou esquecer nenhum de vocês, com certeza muita coisa eu devo a vocês durante esse tempo de sofrimento e alegria, momentos bons e ruins, de apertos mais que estávamos sempre juntos, mesmo quando achávamos que o diploma não iria chegar nunca, e olha onde estamos, fomos capazes sim, e merecemos muito tudo isso. Enfim, só tenho motivos para agradecer, obrigada a todos que estiveram presente de alguma forma na maior realização da minha vida.

RESUMO

Os polissacarídeos sulfatados (PS) são macromoléculas complexas que apresentam uma estrutura rica em poliânions. Em algas, estes PS são comumente encontrados em sua matriz extracelular, onde sua estrutura varia entre as diferentes espécies de alga, tanto no tipo de açúcar, quanto na posição da ligação glicosídica e sitio de sulfatação, sendo estes fatores importantes para a determinação de suas funções biológicas. Nos últimos anos, os PS têm chamado atenção uma vez que estão envolvidos em vários processos celulares, podendo apresentar potencial biológico, desempenhando papéis como antitrombótico, antioxidante, antiviral, anticoagulante. Uma das maiores fontes de PS naturais são algas marinhas e por essa razão são utilizados em bioprospecção. Todavia, as algas do gênero *Gracilaria* não possuem estudos aprofundados com relação a estrutura química dos PS “versus” suas atividades biológicas. Por essa razão o objetivo deste trabalho foi descrever a atividade antioxidante dos PS extraídos de diferentes espécies do gênero *Gracilaria* que tenham a sua estrutura química integralmente elucidada. Buscas foram realizadas nas plataformas PubMed, Scielo, Science Direct, utilizando os seguintes descritores: Gracilaria, sulfated polysaccharide, structure, specie, macroalgae no campo de busca das referidas plataformas, onde o descritor “specie” foi substituído individualmente pelas diversas espécies encontradas no gênero *Gracilaria*. Na busca feita nas 03 plataformas foram aceitos somente artigos disponíveis e não foram selecionados filtros temporais. Foram encontradas 44 (100%) espécies do gênero *Gracilaria*, dentre essas em 28 (63,63%) espécies não foram encontrados quaisquer artigos utilizando os descritores, restando apenas 16 (36,36%) espécies de algas com artigos encontrados. Neste grupo, foram aplicados critérios de exclusão que foram referências duplicadas encontradas em bases de dados distintas, artigos que após serem lidos não apresentaram informações necessárias para o estudo ou estavam fora do contexto apresentando, bem como outras informações que não seriam objeto direto deste trabalho, com isso, apenas 3 (9,09%) espécies de algas foram selecionadas; *G. birdiae*, *G. caudata*, *G. gracilis*, e *G. intermedia*. Nestas 03 espécies foram encontradas suas respectivas nomenclatura da estrutura química, onde apresentaram os tipos de ligações mais comuns sendo, β -D-galactopiranosose, a 3,6-anidro- α -L-galactopiranosose e a α -L-galactopiranosose-6 sulfato. As principais técnicas utilizadas pelos autores para definição dessas estruturas químicas foram espectroscopia de infravermelho e espectroscopia de ressonância magnética nuclear. A atividade biológica encontrada foi a antioxidante. Na primeira, não relatos detalhando o mecanismos de ação. Por outro lado, para ação antioxidante os mecanismos de ação indicados envolvem a capacidade de quelante de ferro (Fe^{2+}) e eliminação do radical hidroxila por doação de hidrogênio, os quais previnem dano celular. Inicialmente, foi notório o baixo número de artigos apresentando elucidação completa da estrutura química desses PS e suas respectivas potencialidades biológicas. Os dados estruturais encontrados são convincentes. Todavia, há outras atividades biológicas possíveis de serem testadas, o qual ocorreu em muitos trabalhos, porém sem o engajamento químico-estrutural devidamente alinhado.

Palavras-chave: *Gracilaria*, polissacarídeos sulfatados, estrutura química, espécie, macroalga marinha.

ABSTRACT

Sulfated polysaccharides (PS) are complex macromolecules that exhibit a polyanion-rich structure. In algae, these PS are commonly found in their extracellular matrix, where their structure varies between different algal species, both in the type of sugar, the position of the glycosidic bond, and the sulfation site, all of which are important factors in determining their biological functions. In recent years, PS have drawn attention because they are involved in various cellular processes, and may have biological potential, playing roles as antithrombotic, antioxidant, antiviral, and anticoagulant. One of the major sources of natural PS are seaweeds and for this reason they are used in bioprospecting. However, the algae of the genus *Gracilaria* do not have in-depth studies regarding the chemical structure of PS "versus" their biological activities. For this reason, the aim of this work was to describe the antioxidant activity of PS extracted from different species of the genus *Gracilaria* that have their chemical structure fully elucidated. Searches were performed in PubMed, Scielo and Science Direct platforms, using the following descriptors: *Gracilaria*, sulfated polysaccharide, structure, specie, macroalgae in the search field of those platforms, where the descriptor "specie" was individually replaced by the several species found in the genus *Gracilaria*. In the search on the 03 platforms, only available articles were accepted and no time filters were selected. Forty-four (100%) species of the genus *Gracilaria* were found, among these, in 28 (63.63%) species no articles were found using the descriptors, leaving only 16 (36.36%) species of algae with articles found. In this group, exclusion criteria were applied, such as duplicate references found in different databases, articles that after being read did not present the necessary information for the study or were out of context, as well as other information that would not be the direct object of this work. Thus, only 3 (9.09%) species were selected; *G. birdiae*, *G. caudata*, *G. gracilis*, and *G. intermedia*. In these 03 species their respective chemical structure nomenclature was found, where they presented the most common bond types being, β -D-galactopyranose, the 3,6-anhydro- α -L-galactopyranose, and the α -L-galactopyranose-6 sulfate. The main techniques used by the authors to define these chemical structures were infrared spectroscopy and nuclear magnetic resonance spectroscopy. The biological activity found was antioxidant. For the former, there were no reports detailing the mechanism of action. On the other hand, for the antioxidant action, the mechanisms of action indicated involve the capacity of chelating iron (Fe^{2+}) and elimination of the hydroxyl radical by hydrogen donation, which prevent cellular damage. Initially, it was notable the low number of articles presenting a complete elucidation of the chemical structure of these PS and their respective biological potentialities. The structural data found are convincing. However, there are other possible biological activities to be tested, which occurred in many papers, but without the chemical-structural engagement properly aligned.

Keywords: *Gracilaria*, sulfated polysaccharides, chemical structure, species, marine macroalgae.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representantes dos filos: A) <i>Rhodophyta</i> (algas vermelhas) - <i>Ochtodes secundiramea</i> (foto: E.O.V. Martins); B) <i>Phaeophyta</i> (algas pardas/marrons) - <i>Dictyota ciliolata</i> (foto: Sandra Magalhães); C) <i>Clorophyta</i> (algas verdes) – <i>Ulva</i>	13
Figura 2. Alga marinha vermelha <i>Gracilaria birdiae</i> em zona de cultivo.....	17
Figura 3. Aspecto geral de <i>Gracilaria caudata</i> na natureza.....	18
Figura 4. Aspecto geral de <i>Gracilaria intermédia</i> encontrada na natureza.....	19
Figura 5: Estrutura do PS, mostrando as unidades de açúcar repetitivas com a presença de grupos sulfato.....	20
Figura 6: Estrutura representativa da galactana de algas vermelhas, formando um arranjo alternado entre as unidades A e B.....	23
Figura 7. Estrutura básica repetitiva de carragenanas e agaranas.....	24
Figura 8. Busca pela espécie <i>G. brasiliensis</i> em bases de dados científicas sem resultado.....	31
Figura 9. Busca pela espécie <i>G. pacifica</i> em bases de dados científicas sem resultado.....	32
Figura 10. Busca pela espécie <i>G. salicoria</i> em bases de dados científicas sem resultado.....	32
Figura 11. Algas que obtiveram artigos encontrados.....	33
Figura 12. Algas que restaram após a inclusão dos critérios escolhidos.....	35
Figura 13. Dados sobre os artigos encontrados após as pesquisas nas plataformas de busca sobre a espécie <i>G. birdiae</i>	35
Figura 14. Dados sobre os artigos encontrados após as pesquisas nas plataformas de busca sobre a espécie <i>G.caudata</i>	38
Figura 15. Dados sobre os artigos encontrados após as pesquisas nas plataformas de busca sobre a espécie <i>G.intermédia</i>	40

LISTA DE TABELA

Tabela 1. Análise dos artigos obtidos por meio da metodologia empregada e, conseqüente, avaliação dos que foram submetidos ao estudo de acordo com os critérios escolhidos.....	34
---	----

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Espécies do gênero <i>Gracilaria</i> encontradas nas bases de dados científicas.....	30
Quadro 2. Algas que não obtiveram artigos encontrados.....	31

LISTA DE ABREVIACOES

aPTT	Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada
FT-IR	Espectro de infravermelho por transformação de Fourier
GAGs	Glicosaminoglicanos
PS	Polissacarídeos Sulfatados
PT	Tempo de Protrombina
RMN	Ressonância magnética nuclear
TT	Tempo de trombina

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
1.1. Algas Marinhas.....	13
1.1.1. Características gerais das algas vermelhas	13
1.1.2. Macroalgas Marinhas	14
1.1.3. O gênero <i>Gracilaria</i>	16
1.2. Polissacarídeos Sulfatados	19
1.2.1. Polissacarídeos Sulfatados de algas	21
1.3. Atividade Antioxidante de Polissacarídeos Sulfatados de algas marinhas	24
2. JUSTIFICATIVA	26
3. OBJETIVO	27
3.1. Objetivo geral	27
3.2. Objetivos específicos	27
4. METODOLOGIA	28
4.1. Desenho do estudo	28
4.2. Coleta dos dados	28
4.3. Critérios de análise.....	28
5. RESULTADO E DISCUSSÃO	30
5.1. <i>Gracilaria birdiae</i>	35
5.2. <i>Gracilaria caudata</i>	38
5.3. <i>Gracilaria intermedia</i>	40
6. CONCLUSÃO	43
7. REFERÊNCIA	44

1. INTRODUÇÃO

1.1. Algas Marinhas

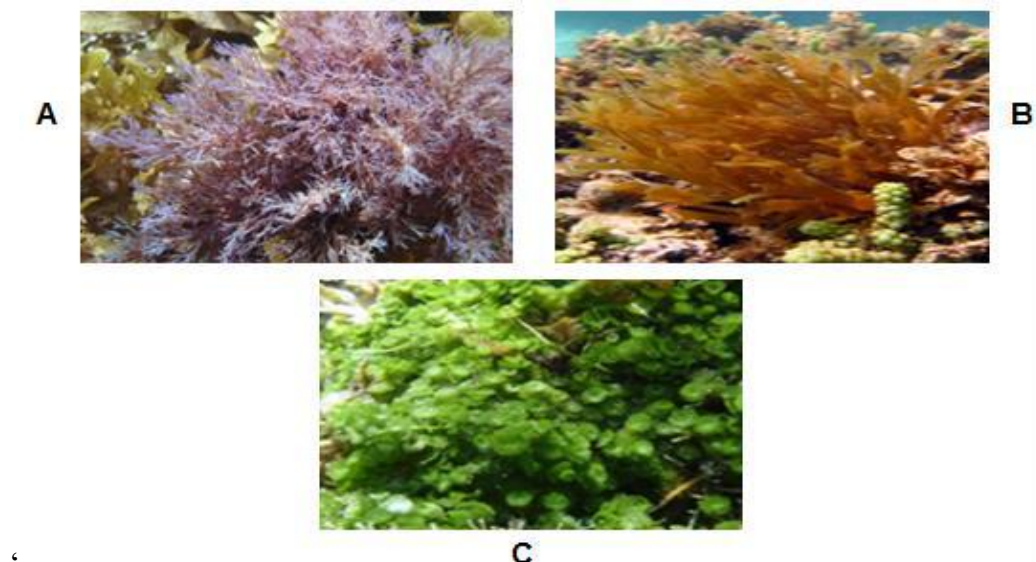
1.1.1. Características gerais das algas vermelhas

Consideradas como um grupo de seres aquáticos autotróficos fotossintetizantes, as algas marinhas podem ser encontradas em diversos ambientes marinhos e continentais, exercendo a função de proteção para outros organismos, como invertebrados e peixes. Sua classificação é bem diversificada, porém na maioria das vezes, as algas são classificadas com base na coloração resultante da combinação dos pigmentos presentes em seus plastos (clorofilas e pigmentos acessórios, como carotenóides, ficobilinas e xantofilas que mascaram a cor verde das clorofilas), e nas características morfológicas e anatômicas (VIDOTTI e ROLLEMBER, 2004).

Desta forma, com base no pigmento são classificadas em sete filós: *Phaeophyta* (marrons/pardas), *Clorophyta* (verdes) e *Rhodophyta* (vermelhas), (Figura 1).

Alguns autores consideram também a classificação em Cyanophyta, ou algas azuis (cianobactérias), que representam os organismos procariontes cujas células não possuem núcleo definido, mitocôndria e os tilacóides ficam dispersos no citoplasma. Os pigmentos que ditam a sua cor azul-esverdeadas são ficocianina e aloficocianina (RAVEN, EVERT e EICHHORN, 2007).

Figura 1. Representantes dos filós: A) *Rhodophyta* (algas vermelhas) - *Ochtodes secundiramea* (foto: E.O.V. Martins); B) *Phaeophyta* (algas pardas/marrons)- *Dictyota ciliolata* (foto: Sandra Magalhães); C) *Clorophyta* (algas verdes)- *Ulva*.



Fonte: www.biodiversidade.pgibt.ibot.sp.gov.br. Acesso em: 30/06/2022.

Apesar de possuírem algumas características ecológicas em comum, são encontradas nas algas características morfológicas, estruturais e metabólicas bastante variadas (OLIVEIRA, 2014). Onde, as algas vermelhas apresentam uma grande diversidade de espécies: entre 4.000 e 6.000 e várias destas estão distribuídas na costa atlântica brasileira devido à sua preferência por águas de temperatura quente (COSTA, 2020).

De modo geral, em sua maioria são macroalgas, variando de poucos centímetros até cerca de um metro de comprimento, com formas cilíndricas compridas ou foliáceas. Essas algas não necessariamente precisam ser vermelhas, podendo se apresentar com tonalidades acastanhadas ou mesmo roxas (TEIXEIRA, 2012; RAVEN; EVERT e EICHHORN, 2014).

O pigmento ficoeritrina é responsável pela coloração avermelhada destes organismos mascarando a cor verde da clorofila tipo a. Em pequenas quantidades também são encontrados os pigmentos ficocianina e aloficocianina. As algas vermelhas possuem clorofila tipo d, bem como diversos carotenoides e armazenam no citoplasma o amido como a principal substância de reserva (VIDOTTI e ROLLEMBER, 2004; RAVEN *et al.*, 2007).

1.1.2. Macroalgas Marinhas

As macroalgas apresentam um grande número de espécies. Elas formam a base da cadeia alimentar e servem como fonte de nutrientes para uma grande variedade de organismos aquáticos. As macroalgas servem também de abrigo, de berçário e de refúgio para várias espécies de invertebrados e pequenos vertebrados. A importância das macroalgas em ecossistemas naturais aumenta com a crescente eutrofização da biosfera, pois elas garantem oxigênio para a manutenção da vida em praticamente todos os ecossistemas do planeta terra (MARIANO-SORIANO, CARNEIRO e SORIANO, 2008).

Devido à esta importância econômica, o cultivo de algas favorece o desenvolvimento socioeconômico local e tem como vantagem o uso de tecnologias relativamente simples, requerendo baixo capital de investimento inicial. Além disso, as culturas podem ser colhidas em pouco tempo, o que representa um retorno rápido para o investimento (FERDOUSE *et al.*, 2018).

Diante disso, as macroalgas marinha se destacam, pois têm desempenhado um papel importante nas comunidades costeiras durante séculos devido às suas diversas aplicabilidades (PORSE e RUDOLPH, 2017).

Elas são coletadas nas praias de várias regiões do mundo para usos tradicionais (FERREIRA, *et al.*, 2020). As algas são usadas em uma infinidade de aplicações devido à

expansão global das indústrias baseadas em hidrocolóides, cosméticos e suplementos alimentares (FORSTER *et al.*, 2015; FAO, 2017).

A maior parte da produção de algas no mundo utilizadas com a finalidade de extração de hidrocolóides (alginatos, ágar e carragenanas) utilizados como aditivos alimentares. Os principais hidrocolóides de interesse comercial são o ágar, a carragenana, sendo que ambos são encontrados em algas vermelhas, e o alginato, nas algas pardas (BRAVIN e YONESHIGUE, 2002). Dentre os hidrocolóides, o ágar é um dos mais utilizados por ser um polímero com a característica de formar géis à temperatura ambiente, o que é extremamente importante para o processamento industrial (PORSE, 2017).

Desta forma, as macroalgas apresentam os homopolissacarídeos de galactose sulfatados, conhecidas também como carragenanas e agaranas, que se trata de polímeros capazes de formar fortes géis a baixas concentrações em soluções aquosas. O comportamento dessas redes tridimensionais é baseado na autoassociação da estrutura primária regular desses polissacarídeos. Essa característica promove a formação de grandes agregados, que se dissociam em maiores temperaturas e/ou em presença de agentes quelantes e/ou sais. Ainda, esses polímeros podem apresentar substituições de seus grupos hidroxila por grupamentos metil, piruvato, ésteres de sulfato ou por monossacarídeos adicionais (USOV, 1998). Com isso, é possível encontrar uma significativa variedade estrutural dessas moléculas no interior dos diferentes tipos de algas.

Além do tipo de enantiômero encontrado, o padrão de sulfatação é de suma importância na distinção destas moléculas, visto que tanto a quantidade quanto a posição dos sulfatos apresentam relação direta com a atividade biológica dos PS (FARIAS *et al.*, 2008).

As algas marinhas se apresentam com uma grande variedade de aplicações, sendo o seu uso principal na alimentação humana. Países como Japão e a China são os que mais utilizam algas como alimento (FLORÊNCIO *et al.*, 2012). Dentre outros motivos, isso se deve ao fato das mesmas, fornecerem fibras, minerais e vitaminas. No entanto, há mais de 20 anos as macroalgas eram exploradas de forma indiscriminada nos bancos naturais, mas devido a modificações no ramo de exploração e utilização de macroalgas, na atualidade, houve um esforço significativo no desenvolvimento de técnicas de cultivo em larga escala (CARDOZO *et al.*, 2007).

1.1.3. O gênero *Gracilaria*

O gênero *Gracilaria* possui grande importância econômica, principalmente no que se diz respeito na extração de ágar (PLASTINO *et al.*, 2004). Presente em larga escala na costa nordestina do Brasil, as espécies de algas do gênero *Gracilaria* são devastadas devido à urbanização, resultando mesmo que de forma indireta na depleção de seus leitos através das práticas não ecológicas. Comunidades pesqueiras executam o cultivo de algas desse gênero tanto para a produção de ágar quanto para proteger da devastação do seu ambiente (BEZERRA e MARINHO-SORIANO, 2010).

Diante disso, o ágar extraído dessas espécies é o ficocolóide mais valioso do mercado mundial, compõe-se em duas diferentes substâncias, as quais são a agarose e a agarpectina. Em relação à agarose, esse é um polissacarídeo neutro com uma estrutura linear de unidades de agarbiose dissacarídeo, que consiste em D-galactose e 3,6-L-galactose. Já a agarpectina é um ácido polissacarídico contendo éster de sulfato, ácido pirúvico, ácido D-glucurônico e agarbiose (MARINHO-SORIANO e BOURRET, 2005).

Pesquisadores já demonstraram que a *Gracilaria*, dentre os vários outros gêneros de algas, é um dos mais promissores devido a sua importante capacidade de produzir galactanas sulfatadas em grande quantidade (CARVALHO, 2006).

A *G. birdiae* é encontrada desde o litoral cearense até o Espírito Santo (PLASTINO; OLIVEIRA, 2002), sendo cultivada por técnicas simples em comunidades costeiras, principalmente no Nordeste do Brasil (REBOURS *et al.*, 2014). No litoral do estado do Rio Grande do Norte é intensamente cultivada, com destaque para a comunidade pesqueira localizada na praia do Rio do Fogo, município de Rio do Fogo – RN (Figura 2). A Associação das Maricultoras de Rio do Fogo (AMAR), constituída por mulheres da comunidade local, cultivam esta alga e a utilizam como uma das principais fontes de renda. A população de Rio do Fogo também utiliza esta espécie como alimento, em preparações como sopas, pudins e gelatinas (OLIVEIRA, 2014).

Figura 2. Alga marinha vermelha *Gracilaria birdiae* em zona de cultivo.



Fonte: PLASTINO, E.M. & Oliveira, E.C. *Gracilaria birdiae* (Gracilariales, Rhodophyta), a new species from the tropical South American Atlantic with a terete frond and deep spermatancial conceptacles. *Phycologia*, v.41, p.389-396, 2002.

A coleta da alga marinha *G. birdiae* vem sendo realizada por extração manual ou através de mergulho livre para fins de exportação e também para processamento no próprio país, visando à produção de ágar (VIDOTTI e ROLLEMBERG, 2004), que é um ficocolóide de grande interesse para as indústrias de alimentos (MELO *et al.*, 2002), farmacêutica e cosmética (ARMISEN, 1995), o que tem levado vários países a cultivar algas marinhas (MACIEL *et al.*, 2008).

A alga *G. caudata* (Figura 3) que é uma macroalga vermelha marinha do filo Rhodophyta, geograficamente distribuída em regiões tropicais (MARINHO-SORIANO e BOURRET, 2005). Essa espécie produz ágar sendo explorada para esse fim no Brasil desde a década de 70 (OLIVEIRA e MIRANDA, 1998), sendo a região Nordeste aquela que abriga seu maior banco natural (CARNEIRO *et al.*, 2011). Ela ocorre nos mares da América Central e do Sul, e por quase toda costa brasileira, dos estados do Maranhão à Santa Catarina. Por se tratar de uma espécie que ocorre por quase toda a costa brasileira e, portanto, estar sujeita à diversidade climática, levantam-se questões sobre os limites fisiológicos de *G. caudata* quanto à temperatura (PLASTINO e OLIVEIRA, 1997; NUNES, 2005).

Figura 3. Aspecto geral de *Gracilaria caudata* na natureza.



Fonte: CHIARAMONTE, Amanda Rodrigues. Efeitos da temperatura em *Gracilaria caudata* (Gracilariales, Rhodophyta): estudos fisiológicos em diferentes populações da costa brasileira. 2022. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

A *Gracilaria intermédia* (Figura 4) é uma espécie de alga vermelha, encontrada em águas quentes, encontradas em abundância na costa nordeste, membro da família Gracilariaceae, que inclui algumas das mais importantes algas produtoras de ágar (OLIVEIRA, ALVEAL, & ANDERSON, 2000). Atualmente, existem poucos estudos envolvendo essa espécie, limitando a análise filogenética e pesquisas ecológicas. Apesar do baixo número de estudos científicos sobre *G. intermédia*, e considerando o potencial terapêutico dos PS em doenças do trato gastrointestinal, é fundamental a realização de pesquisas nessa área. Os resultados obtidos pode permitir a adoção de novas terapias e medidas profiláticas (LEODIDO *et al.*, 2017).

Figura 4. Aspecto geral de *Gracilaria intermédia* encontrada na natureza.



Fonte: CASTRO, Joana Paula Lima de et al. Polysaccharides of red alga *Gracilaria intermedia*: structure, antioxidant activity and rheological behavior. *Polímeros*, v. 28, p. 178-186, 2018.

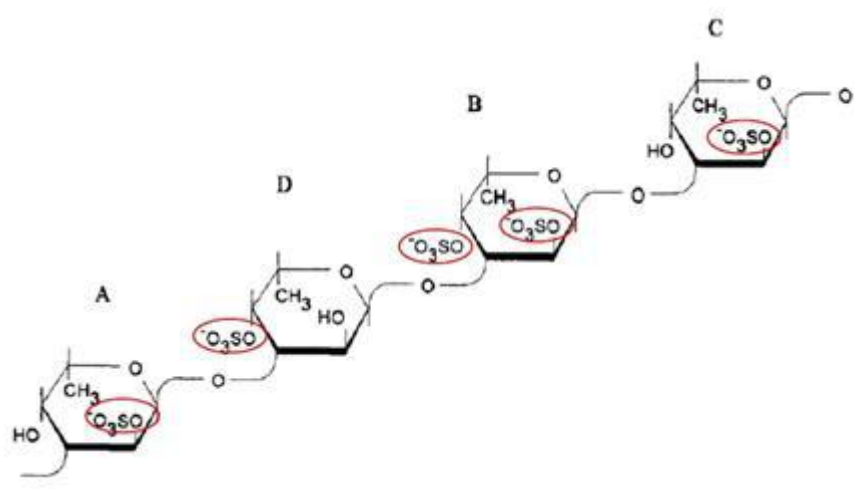
Assim como outras espécies de *Gracilaria*, a *G. intermédia* também podem ser utilizadas como alimento, fertilizantes e na indústria de cosméticos (TORRES; SANTOS; CHOW e SANTOS, 2019). Esta espécie já possui diversas atividades relacionadas, como antioxidante e antidiarreica (CASTRO, 2018).

1.2. Polissacarídeos Sulfatados

Dentro do grupo dos polissacarídeos, existe a classe dos polissacarídeos sulfatados (PS), os quais tem chamado bastante à atenção de alguns pesquisadores, despertando assim grande interesse nas ciências médicas e na biotecnologia de organismos aquáticos, devido ao fato de apresentarem atividades biológicas e estarem envolvidos em diversos processos celulares (BLONDI *et al.*, 1995; MOURÃO *et al.*, 1996; JIAO *et al.*, 2011; RAPOSO *et al.*, 2013). Os PS apresentam-se amplamente distribuídos na natureza, sendo encontrados em microrganismos, animais (vertebrados e invertebrados) e também em algas marinhas (ROCHA *et al.*, 2004).

Os PS representam um grupo de macromoléculas complexas, que possuem uma estrutura química rica em poliânions, apresentando-se como polímeros formados por unidades de açúcar carregados negativamente, devido à presença de grupos sulfato, podendo apresentar outras substituições como carboxilas (Figura 5). No entanto, os PS são encontrados principalmente em algas marinhas (JIAO *et al.*, 2011) Essas características, que em última instância possibilitam sua ligação a um grande número de proteínas, são responsáveis pelas inúmeras atividades biológicas (JIAO *et al.*, 2011; RAPOSO *et al.*, 2013). Já foram demonstradas atividades como anticoagulante (PEREIRA *et al.*, 2005), antitrombótica (MOURÃO & PEREIRA, 2000; MOURÃO, 2004), antitumoral (GARDEVA *et al.*, 2009; RUI *et al.*, 2017), antiproliferativa (COSTA, 2010), antiviral (RADONIC *et al.*, 2010), antioxidante (ZHANG *et al.*, 2003), anti-inflamatória (COURA *et al.*, 2012).

Figura 5: Estrutura do PS, mostrando as unidades de açúcar repetitivas com a presença de grupos sulfato.



Fonte: MILLER, I. J., & FURNEAUX, R. H. (1997). The Structural Determination of the Agaroid Polysaccharides from Four New Zealand Algae in the Order Ceramiales by Means of ^{13}C NMR Spectroscopy. *Botanica marina*, 40(1 -6), 333 -340.

Dentre os PS existem os glicosaminoglicanos (GAGs) que são os PS de animais mais conhecidos. Eles são polissacarídeos lineares compostos de unidades dissacarídicas alternativas, ligados por ligações glicosídicas, com a sulfatação ocorrendo em diferentes posições. Quase todos os GAGs estão distribuídos nos tecidos na forma de proteoglicanos, onde as cadeias desses polissacarídeos estão covalentemente ligadas a uma proteína (DREYFUSS *et al.*, 2009).

1.2.1. Polissacarídeos Sulfatados de algas

Devido às flutuações de umidade, temperatura, salinidade e intensidade luminosa do meio em que vivem, as algas marinhas apresentam uma diversidade estrutural bastante complexa. Em decorrência disto, a parede celular das macroalgas é bastante resistente, composta por uma fração fibrilar rica em celulose formada por repetições de D-glucose que confere resistência, e outra fração amorfa rica em PS que conferem flexibilidade (RAVEN, EVERT e EICHHORN, 2014).

Esta fração amorfa é composta por um componente mucilaginoso, que varia em sua composição de acordo com a classificação das algas. Nas algas vermelhas este material amorfo se encontra na forma de PS constituídos por repetições de D-galactose, denominados de galactanas sulfatadas devido à presença de ésteres de sulfato em sua cadeia carbônica (CRAIGIE, 1990).

Os PS de algas marinhas vermelhas são macromoléculas polianiónicas complexas formadas por unidades repetitivas principalmente de D-galactose. Dentre os grupos substituintes das hidroxilas presentes, os grupamentos sulfatos são os mais frequentes, conferindo diversidade estrutural e propriedades biológicas diversificadas para cada espécie de alga (JIAO *et al.*, 2011). Além da flexibilidade na parede celular, pouco se sabe sobre outras funções desempenhadas pelos PS nas algas, porém, sugere-se que uma das suas funções seja a proteção contra desidratação em condições de maré baixa através da regulação osmótica e iônica, o que explica o fato de que algas que são encontradas na zona entre marés apresentam maior teor de PS (MICHEL *et al.*, 2010).

A diversidade estrutural dos polissacarídeos proporciona a essas moléculas diversas propriedades, que são um dos fatores cruciais para o interesse em relação ao estudo de algas marinhas. Vários grupos de pesquisas utilizam esses polissacarídeos na busca de novas fontes de biomoléculas com atividade biológica, como: antiinflamatória, antinociceptiva (BHATIA *et al.*, 2019), anticoagulante (MENDES MARQUES *et al.*, 2019), gastroprotetora, antidiarreica (LIU *et al.*, 2019), antioxidante (ALENCAR *et al.*, 2019), dentre outras. Enquanto que várias indústrias utilizam os PS como hidrocolóides, aplicados como espessantes, gelificantes, estabilizantes de espumas, emulsões, inibidores de formação de cristais de açúcar, liberação controlada de aromas, dentre outras (PORSE, 2017).

1.2.1.1. Polissacarídeos Sulfatados de algas vermelhas

O estudo detalhado da estrutura química dos PS é importante para correlacionar funções químicas presentes em seus esqueletos carbônicos, como padrões de sulfatação, substituições das cadeias laterais e ocorrência de grupamentos metílicos ou açúcares anidros, com propriedades físico-químicas e/ou potencial biológico (USOV; BILAN, 2009). Parece haver uma estreita correlação entre sua estrutura principal, composição de monossacarídeos, substituições de sulfato e a taxa em que são encontradas (COSTA *et al.*, 2010).

As galactanas sulfatadas compartilham uma cadeia linear básica comum constituída por repetições de dissacarídeos, são polímeros de açúcares complexos e heterogêneos constituídos por unidades repetitivas alternadas de β (1 \rightarrow 3) D-galactopiranosose (unidade A) e α (1 \rightarrow 4) D- ou L- galactopiranosose (unidade B) dotados de radicais sulfato, os quais são componentes da matriz extracelular (Figura 6) (PAINTER, 1983). A classificação das galactanas segue a estereoquímica dessas moléculas, quando relacionada à unidade B. Quando a referida unidade pertence a série D-, sugere-se a ocorrência de carragenanas e quando pertencem a série L-, dita-se como agaranas (CAMPO *et al.*, 2009).

Conhecidas também como carragenanas e agaranas, termos que são utilizados, de maneira geral, para referir-se a uma família de PS que tem suas propriedades gelificantes alteradas por variações intramoleculares, as quais geram interações intermoleculares, que se trata de polímeros capazes de formar fortes géis a baixas concentrações em soluções aquosas. O comportamento dessas redes tridimensionais é baseado na auto associação da estrutura primária regular desses polissacarídeos. Essa característica promove a formação de grandes agregados, que se dissociam em maiores temperaturas e/ou em presença de agentes quelantes e/ou sais. Ainda, esses polímeros podem apresentar substituições de seus grupos hidroxila por grupamentos metil, piruvato, ésteres de sulfato ou por monossacarídeos adicionais (USOV, 1998).

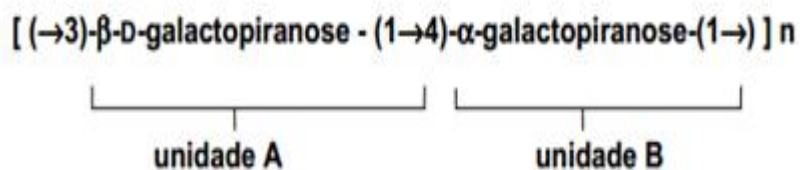
Com isso, é possível encontrar uma significativa variedade estrutural dessas moléculas no interior dos diferentes tipos de algas. Desta forma, além do tipo de enantiômero encontrado, o padrão de sulfatação é de suma importância na distinção destas moléculas, visto que tanto a quantidade quanto a posição dos sulfatos apresentam relação direta com a atividade biológica dos PS (FARIAS *et al.*, 2008).

Em relação as carragenanas, cada família é subdividida em diferentes tipos e constituídas de unidades (1 \rightarrow 3)- β -D-galactopiranosose (unidade A) e (1 \rightarrow 4)- α -D-galactopiranosose (unidade B) (STEPHANIE *et al.*, 2010). Os três tipos de carragenanas mais importantes comercialmente são: Kappa (κ -), Iota (ι -) e Lambda (λ -), que diferem entre si de acordo com a quantidade e a

posição dos grupos sulfato nas unidades A e B e ciclização da unidade B. A kappa-carragenana apresenta apenas um radical sulfato em sua estrutura, que é constituída por [(1→3)-β-D-galactopiranosose 4-sulfato- (1→4) 3,6-anidro-α-D-galactopiranosose éster sulfato]. A iota-carragenana apresenta na sua estrutura dois radicais sulfato [(1→3)-β-D-galactopiranosose 4-sulfato- (1→4) 3,6-anidro-α-D-galactopiranosose 2-sulfato] e a lambda-carragenana apresenta três radicais sulfato e apresenta-se na forma de [(1→3)-β-D-galactopiranosose 2-sulfato- (1→4) 3,6-anidro-α-D-galactopiranosose 2,6-dissulfato] (PAINTER, 1983).

As agaranas apresentam uma estrutura básica repetitiva, constituída por unidades alternantes de β-D-galactopiranosose (unidade A) e α-L-galactopiranosose (unidade B), diferindo, portanto, das carragenanas pela forma estereoquímica L- da unidade B. De acordo com Stortz e Cerezo (2000), assim como nas carragenanas, a unidade B das agaranas pode estar na forma do seu derivado 3,6-anidrogactose, porém, a substituição por grupos sulfato, metil e pirúvico em suas estruturas difere do observado em carragenanas. A presença de unidades A piruvatadas (4,6-O-(1carboxietilideno)-D-galactopiranosose) e com grupos metil (6-O-metil-D-galactopiranosose) é frequente, bem como cadeias laterais de 4-O-metil-Lgalactopiranosose e unidades B metiladas no carbono 2. A classificação das agaranas não é tão específica quanto a das carragenanas (PAINTER, 1983).

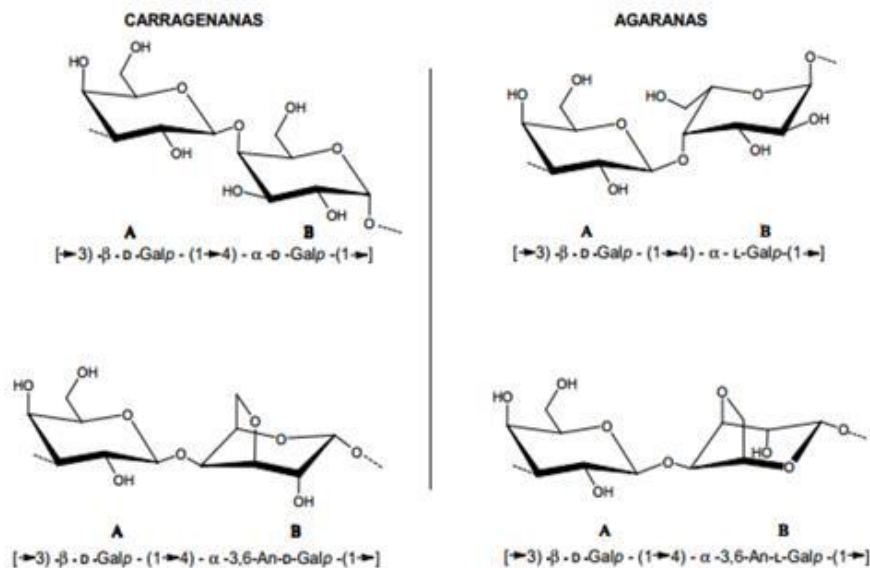
Figura 6: Estrutura representativa da galactana de algas vermelhas, formando um arranjo alternado entre as unidades A e B.



Fonte: PAINTER, TJ. Algal Polysaccharides. In ASPINALL, GO. The Polysaccharides. New York: Academic Press, vol 2, p. 195-285, 1983. Acesso em: 26 de dezembro de 2022.

Entre esses PS a principal diferença estrutural está no fato de a unidade B do dissacarídeo básico (α-galactopiranosose) ser um esteoisômero L nas agaranas e D nas carragenanas, enquanto que os resíduos de β-galactopiranosose sempre pertencerem a série estereoisomérica D (Figura 7) (USOV,1998; LAHAYE, 2001).

Figura 7. Estrutura básica repetitiva de carragenanas e agaranas.



Fonte: PAINTER, TJ. Algal Polysaccharides. In ASPINALL, GO. The Polysaccharides. New York: Academic Press Acesso em: 26 de dezembro de 2022. vol 2, p. 195-285, 1983. Acesso em: 26 de dezembro de 2022.

1.3. Atividade Antioxidante de Polissacarídeos Sulfatados de algas marinhas

Os antioxidantes, quer sejam naturais ou sintéticos, possuem elevada estabilidade oxidativa em função de sua estrutura molecular, e por isso desempenham papel fundamental na prevenção à oxidação de substâncias. Sendo assim, os antioxidantes são definidos como compostos que possuem a capacidade de proteger os sistemas biológicos contra os efeitos, potencialmente nocivos de processos ou de reações que causam excessiva oxidação nas células vegetais e animais (VASCONCELOS *et al.*, 2007).

As propriedades antioxidantes dos PS totais da alga marinha são normalmente avaliados através do método DPPH e os resultados demonstram que estes apresenta um efeito moderado na inibição da formação desses radicais e que o conteúdo de sulfato influenciou de forma significativa na expulsão do radical hidroxila.

As algas marinhas têm despertado a atenção como fontes naturais de antioxidantes com perspectiva de utilização terapêutica, aplicação na alimentação e na indústria de cosméticos (SMIT, 2004). O interesse inicial pelo estudo de substâncias com atividade antioxidante em algas surgiu no Japão, na busca de novos aditivos para alimentos, em substituição àqueles antioxidantes sintéticos utilizados, como o hidroxianisol butilado (BHA) e o hidroxitolueno

butilado (BHT), os quais mostravam efeitos carcinogênicos, alterações enzimáticas e lipídicas em animais (ROCHA *et al.*, 2007). O fato de algumas algas secas poderem ser estocadas por um longo período sem o perigo de deterioração oxidativa, mesmo apresentando mais de 30% do total de seus ácidos graxos na forma de cadeias poliinsaturadas despertou o interesse dos pesquisadores em relação ao mecanismo antioxidante presente nessas algas (FUJIMOTO e KANEDA, 1980).

As algas marinhas por serem organismos fotossintéticos desenvolveram uma série de mecanismos fisiológicos de defesa contra os efeitos das espécies reativas de oxigênio, uma vez que as membranas fotossintéticas são alvo primário para os efeitos deletérios oxidativos, por conterem lipídeos não saturados. Portanto, vários mecanismos de proteção são desenvolvidos nessas células em função de estarem sempre submetidas a rápidas variações de intensidade de luz e concentrações de O₂ e CO₂ ao longo da coluna de água e, assim, sua sobrevivência depende de uma resposta eficiente ao estresse oxidativo (MATSUKAWA *et al.*, 1997).

O estresse oxidativo é caracterizado por um desequilíbrio entre a produção de radicais livres e a capacidade de ação dos sistemas antioxidantes, no caso de um estresse oxidativo leve, as células reagem à situação, aumentando a produção de defesas antioxidantes, tentando restabelecer o equilíbrio. No entanto, quando essas espécies são produzidas de forma acentuada, e os mecanismos de defesa são incapazes de neutralizá-los, elas oferecem risco à saúde, pois podem provocar danos a uma grande variedade de biomoléculas, causando lesão celular e danos irreversíveis, ocasionando assim, morte celular (WANG *et al.*, 2011).

2. JUSTIFICATIVA

O estudo detalhado da estrutura química dos PS é importante para correlacionar funções químicas presentes em seus esqueletos carbônicos, como padrões de sulfatação, substituições das cadeias laterais e ocorrência de grupamentos metílicos ou açúcares anidros, com propriedades físico-químicas e/ou potencial biológico (USOV; BILAN, 2009). Devido a essas possibilidades de ligações entre os monossacarídeos e a distribuição de grupamentos sulfato existe uma complexidade em se buscar essas estruturas, existe uma estreita correlação entre sua estrutura principal, composição de monossacarídeos, substituições de sulfato e a taxa em que são encontradas (COSTA *et al.*, 2010). E, assim, cada polissacarídeo pode possuir conformação estrutural única e, portanto, apresentar atividades biológicas diferentes e ou mais potentes do que outros polissacarídeos ou outros compostos já descritos (COURA *et al.*, 2012)

Apesar do grande potencial dos polissacarídeos de algas, da diversidade de espécies de algas e, conseqüentemente, da quantidade de PS nelas encontrados, poucos estudos foram realizados com esses compostos (ZHANG *et al.*, 2009). Devido à dificuldade em se encontrar informações descritas na literatura a respeito dos PS extraídos das algas marinhas do gênero *Gracilaria* com sua estrutura química elucidada, teve o interesse na prospecção e avaliação de novas moléculas que possam trazer informações relevantes, juntamente com sua atividade antioxidante comprovada cientificamente, tendo em vista, que a estrutura química apresenta relação direta com as atividades biológicas que pode apresentar, justamente pela relação estrutura-atividade.

3. OBJETIVO

3.1. Objetivo geral

O objetivo deste estudo é descrever a atividade antioxidante dos PS extraídos de diferentes espécies do gênero *Gracilaria* desde que tenham a sua estrutura química devidamente elucidada.

3.2. Objetivos específicos

Coletar através de revisão bibliográfica, as estruturas químicas dos PS extraídos das algas marinhas do gênero *Gracilaria*.

Verificar o efeito dos PS extraídos das diversas espécies de *Gracilaria*.

Analisar a composição química dos PS extraídos das algas marinhas vermelhas.

Avaliar os métodos utilizados para determinar a atividade antioxidante presente nas diversas espécies de *Gracilaria* que obtenham sua estrutura química elucidada.

4. METODOLOGIA

4.1. Desenho do estudo

Trata-se de um estudo de revisão integrativa e sistemática com abordagem quantitativa e qualitativa de caráter exploratório, baseado em análise documental estruturada da literatura referente a atividade antioxidante dos PS extraídos de diferentes espécies do gênero *Gracilaria* que tenham a sua estrutura química devidamente elucidada.

4.2. Coleta dos dados

O estudo foi realizado em três etapas, sendo que a primeira etapa referente a uma pesquisa com a finalidade de obter uma lista com as diversas espécies de *Gracilaria* existentes; a segunda etapa foi compreendida na pesquisa de espécies, individualmente, para verificar os dados presentes na literatura até a data de corte previamente definida e foi criada uma planilha com o número de artigos encontrados de cada espécie nas bases de dados *PubMed*, *Scielo* e *Science Direct*; e a terceira foi fundamentada na implantação dos critérios de exclusão até que chegasse no resultado final das buscas das espécies que estavam de acordo com esses critérios.

Sob esse viés, foram pesquisados livros, teses e revisões bibliográficas sobre este gênero de macroalga marinha. Com isso, foi necessária a identificação de todas as espécies pertencentes ao gênero *Gracilaria*, em que foi encontrado uma listagem com todas essas espécies (COSTA, 2013) (ver Quadro 1).

Posteriormente, buscas foram realizadas no período de janeiro de 2022 a julho de 2022, nas seguintes bases de dados bibliográficas *PubMed*, *Scielo*, *Science Direct*, utilizando os seguintes descritores: *gracilaria*, polissacarídeos sulfatados, estrutura, espécie e macroalga marinha e no inglês *gracilaria*, *sulfated polysaccharides*, *structure*, *species and marine macroalgae* no campo de busca dos sites utilizados. Onde se lê “*species*” ou “espécies” houve a substituição desta palavra pelas espécies encontradas na pesquisa anterior, espécies de algas do gênero *Gracilaria*, apresentada no Quadro 1. Ainda, o grupo de artigos encontrados inicialmente foram, posteriormente, submetidos por filtros descritos na seção abaixo.

4.3. Critérios de análise

Os critérios de inclusão foram polissacarídeos sulfatados extraídos das algas marinhas vermelhas do gênero *Gracilaria*, sempre artigos gratuitos e/ou disponíveis, artigos em inglês e português, foram realizadas as busca por artigos relacionados à análise das diversas espécies de *Gracilaria*, atividade antioxidante e estrutura química, envolvendo polissacarídeos sulfatados extraídos dessas algas. Foram incluídos todos os artigos sem delimitação no tempo de

publicação. Dessa forma, após a etapa inicial de uso dos critérios de inclusão, foram utilizados os critérios de exclusão. Com isso, os critérios de exclusão foram referências duplicadas encontradas em bases de dados distintas, artigos que após serem lidos não apresentaram informações necessárias para o estudo ou estavam fora do contexto apresentando, bem como outras informações que não seriam objeto direto deste trabalho.

5. RESULTADO E DISCUSSÃO

Foram encontradas 44 espécies diferentes do gênero *Gracilaria*: *G. apiculata*, *G. armata*, *G. birdiae*, *G. brasiliensis*, *G. bursa-pastori*, *G. caudata*, *G. cervicornis*, *G. chilensis*, *G. córnea*, *G. crassíssima*, *G. cuneifólia*, *G. curtissiae*, *G. cylindrica*, *G. damaecomis*, *G. domingensis*, *G. edulis malaysa*, *G. eucheumatoides*, *G. flabelliforme*, *G. galetensis*, *G. gracilis*, *G. hayi*, *G. incurvata*, *G. intermedia*, *G. isabellana*, *G. longa*, *G. mammillaris*, *G. occidentalis*, *G. oliveirarum*, *G. ornata*, *G. pacifica*, *G. parvispora*, *G. punctata*, *G. preissiana*, *G. rangiferina*, *G. salicoria*, *G. secunda*, *G. smithsoniensis*, *G. spinulosa*, *G. tenuistipitata*, *G. urvillei*, *G. venezuelensis*, *G. vermiculophylla*, *G. viellardii* e *G. yoneshigueana*. Elaborou-se um quadro onde indicava todas as espécies do gênero *Gracilaria* (Quadro 1).

Quadro 1. Espécies do gênero *Gracilaria* encontradas nas bases de dados científicas.

<i>G. apiculata</i>	<i>G. curtissiae</i>	<i>G. intermedia</i>	<i>G. rangiferina</i>
<i>G. armata</i>	<i>G. cylindrica</i>	<i>G. isabellana</i>	<i>G. salicoria</i>
<i>G. birdiae</i>	<i>G. damaecomis</i>	<i>G. longa</i>	<i>G. secunda</i>
<i>G. brasiliensis</i>	<i>G. domingensis</i>	<i>G. mammillaris</i>	<i>G. smithsoniensis</i>
<i>G. bursa-pastori</i>	<i>G. edulis malaysa</i>	<i>G. occidentalis</i>	<i>G. spinulosa</i>
<i>G. caudata</i>	<i>G. eucheumatoides</i>	<i>G. oliveirarum</i>	<i>G. tenuistipitata</i>
<i>G. cervicornis</i>	<i>G. flabelliforme</i>	<i>G. ornata</i>	<i>G. urvillei</i>
<i>G. chilensis</i>	<i>G. galetensis</i>	<i>G. pacifica</i>	<i>G. venezuelensis</i>
<i>G. córnea</i>	<i>G. gracilis</i>	<i>G. parvispora</i>	<i>G. vermiculophylla</i>
<i>G. crassíssima</i>	<i>G. hayi</i>	<i>G. punctata</i>	<i>G. viellardii</i>
<i>G. cuneifólia</i>	<i>G. incurvata</i>	<i>G. preissiana</i>	<i>G. yoneshigueana</i>

Fonte: COSTA, Emmanuelle da Silva. Algas Gracilarióides (Gracilariaceae, Rhodophyta) na costa brasileira: Uma abordagem morfológica e molecular. 2013. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

Das 44 algas do gênero *Gracilaria*, observou-se que 28 delas não foram encontradas na busca pelas plataformas científicas utilizadas, sendo assim não há informações depositadas nas bases dados científicas submetidas a esse estudo, usando os descritores indicados na metodologia. Dessa maneira, é evidente que inúmeras algas não possuem nem seus polissacarídeos sulfatados estudados e conseqüentemente seus potenciais biológicos ainda não foram explorados (Quadro 2).

Quadro 2. Algas que não obtiveram artigos encontrados.

Algas do gênero <i>Gracilaria</i>			
<i>G. apiculata</i>	<i>G. domingensis</i>	<i>G. occidentalis</i>	<i>G. salicoria</i>
<i>G. brasiliensis</i>	<i>G. flabelliforme</i>	<i>G. oliveirarum</i>	<i>G. secunda</i>
<i>G. bursa-pastori</i>	<i>G. galetensis</i>	<i>G. ornata</i>	<i>G. smithsoniensis</i>
<i>G. cuneifolia</i>	<i>G. hayi</i>	<i>G. pacifica</i>	<i>G. spinulosa</i>
<i>G. curtissiae</i>	<i>G. incurvata</i>	<i>G. preissiana</i>	<i>G. urvillei</i>
<i>G. cylindrica</i>	<i>G. isabellana</i>	<i>G. punctata</i>	<i>G. viellardii</i>
<i>G. damaecomis</i>	<i>G. longa</i>	<i>G. rangiferina</i>	<i>G. yoneshigueana</i>

Apenas por interesse comprobatório, compartilhamos com os leitores algumas figuras abaixo, as quais indicam a ausência de informações de algumas espécies de *Gracilaria*. Poderíamos ter realizado o mesmo procedimento para as 28 espécies (Quadro 2), mas consideramos que estes exemplos (*G. brasiliensis*, *G. pacifica* e *G. salicoria*) eram suficientes para compreensão (Figura 8, Figura 9 e Figura 10).

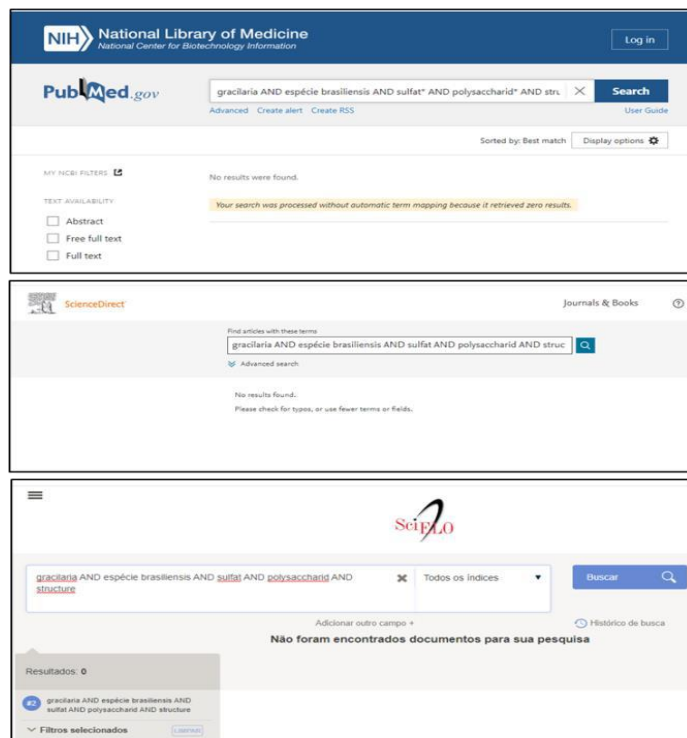
Figura 8. Busca pela espécie *G. brasiliensis* em bases de dados científicas sem resultado.

Figura 9. Busca pela espécie *G. pacifica* em bases de dados científicas sem resultado.

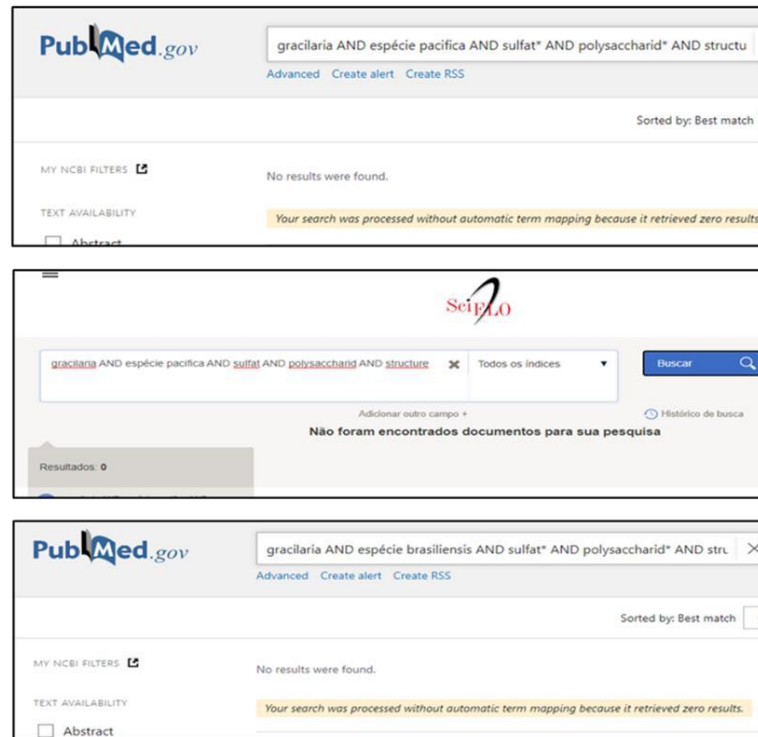
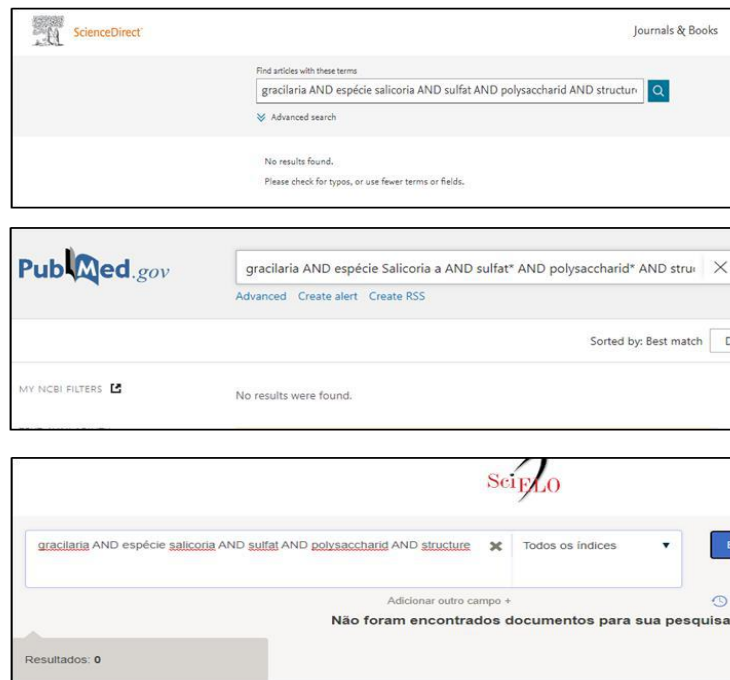
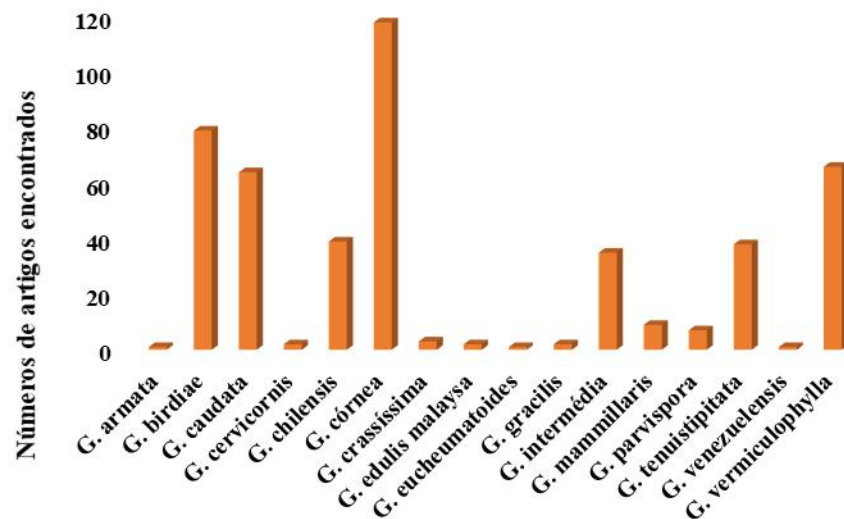


Figura 10. Busca pela espécie *G. salicoria* em bases de dados científicas sem resultado.



Devido à importância econômica da *Gracilaria*, diversos trabalhos foram publicados nas últimas décadas (MARMITT *et al.*, 2015). Dessa maneira, de acordo com o estudo realizado pelo nosso grupo, 16 algas apresentaram resultados, uma vez que foram encontrados artigos científicos nas plataformas de buscas (Figura 11), onde o número de artigos descritos abaixo são os artigos encontrados antes dos critérios de exclusão do presente estudo.

Figura 11. Algas que obtiveram artigos encontrados.



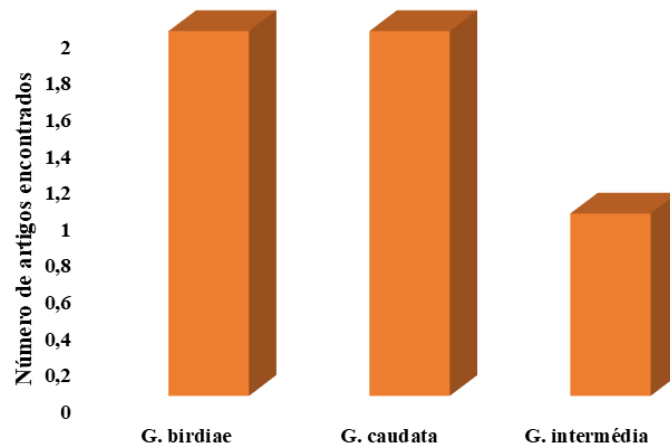
Apesar de se obter um total de 466 artigos científicos desenvolvidos com as diversas espécies, existem espécies que se destacam, como por exemplo a *G. birdiae*, *G. caudata*, *G. chilensis*, *G. córnea*, *G. vermiculophylla*, a maioria desses estudos trata-se de espécies com grande importância econômica, considerada a principal fonte de ágar. Porém este número grande de artigos encontrados não são apenas artigos que se tratam de suas propriedades biológicas e estrutura química e ao longo do estudo foram excluídos um total de 439 artigos (Tabela 1) onde abordam outros assuntos como, aspectos taxonômicos, fisiológicos e estudos de maricultura buscando o conhecimento mais refinado sobre a biologia do grupo.

Tabela 1. Análise dos artigos obtidos por meio da metodologia empregada e, conseqüente, avaliação dos que foram submetidos ao estudo de acordo com os critérios escolhidos.

Algas	Artigos encontrados			Artigos excluídos			
	PubMed	Scielo	Science Direct	Duplicado	Abordagem fora do contexto	Apresentavam informações sobre a alga, mas não suficientes para acrescentar ao trabalho	Artigos submetidos ao estudo
<i>G. armata</i>	0	1	0	0	1	0	0
<i>G. birdiae</i>	0	0	79	0	15	44	2
<i>G. caudata</i>	0	0	64	0	20	39	2
<i>G. cervicornis</i>	1	0	1	0	2	0	0
<i>G. chilensis</i>	0	0	39	0	33	6	0
<i>G. córnea</i>	0	0	118	0	80	38	0
<i>G. crassíssima</i>	1	1	1	3	0	0	0
<i>G. edulis malaysa</i>	2	0	0	0	2	0	0
<i>G. eucheumatoides</i>	1	0	0	0	1	0	0
<i>G. gracilis</i>	2	0	0	0	0	2	0
<i>G. intermédia</i>	1	1	33	2	24	8	1
<i>G. mammillaris</i>	0	0	9	0	8	1	0
<i>G. parvispora</i>	0	0	7	0	5	2	0
<i>G. tenuistipitata</i>	0	0	38	0	32	6	0
<i>G. venezuelensis</i>	0	0	1	0	0	1	0
<i>G. vermiculophylla</i>	1	0	65	1	57	7	0
TOTAL	9	2	455	6	279	154	5

Com a finalidade de contribuir para um melhor conhecimento deste importante grupo de algas propusemos estudar a diversidade das espécies a fim de destacar as que possuem sua estrutura química elucidada dos PS extraídos das diversas espécies de *Gracilaria* e atividade antioxidante comprovada cientificamente, foram separados todos os artigos que apontaram os critérios escolhidos que foram, os artigos que apresentavam os PS extraídos das algas marinhas vermelhas do gênero *Gracilaria*, sempre artigos gratuitos e/ou disponíveis, artigos em inglês e português, onde foram realizadas as busca por artigos relacionados à análise dos diversas espécies de *Gracilaria*, atividade antioxidante e estrutura química elucidada dessas algas marinhas (Figura 12). Ao final, restaram apenas 3 algas *G. birdiae*, *G. caudata* e *G. intermédia*.

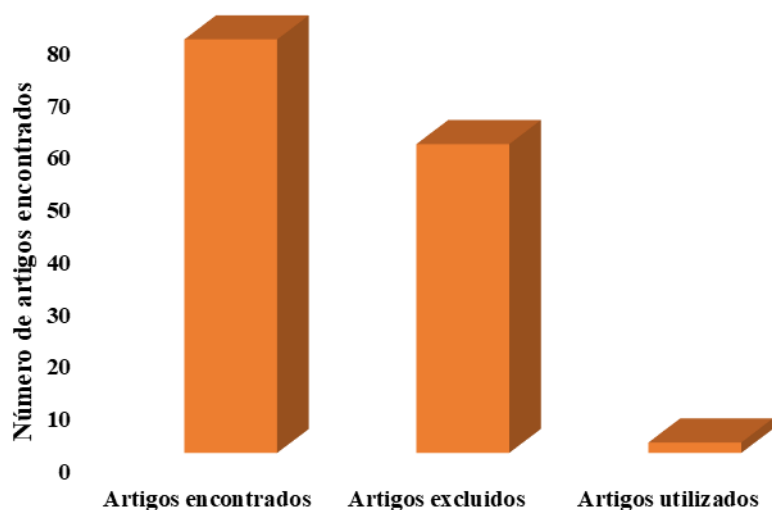
Figura 12. Algas que restaram após a inclusão dos critérios escolhidos.



5.1. *Gracilaria birdiae*

Para a espécie *G. birdiae* foram obtidos 79 artigos científicos, sendo a espécie com maior número de resultado, no entanto, foram encontrados somente 2 artigos que abordam sobre a atividade antioxidante e apresentam a respectiva estrutura química (SOUZA *et al.*, 2012) (Figura 3).

Figura 13. Dados sobre os artigos encontrados após as pesquisas nas plataformas de busca sobre a espécie *G. birdiae*.



De maneira geral, há vários trabalhos que abordam a respeito da presença de grupos sulfato em polissacarídeos de algas marinhas, as quais são responsáveis por inúmeros tipos de

atividades biológicas, como antioxidantes. Sob esse viés, devido ao grande interesse, pesquisadores optam por realizar experimentos voltados as atividades biológicas e em menor frequência em elucidação dos polissacarídeos que são extraídos destas algas, podendo observar isso no número de artigos que relatam essas atividades comparadas ao número de artigos que possuem a estrutura química elucidada.

Segundo Maciel e colaboradores (2008), há experimentos que possibilitaram o isolamento do polissacarídeo solúvel utilizando espécimes da alga vermelha *G. birdiae*, logo após obtiveram os seguintes resultados, o polissacarídeo solúvel da *G. birdiae* extraído a frio é um polissacarídeo não gelificante e representa 6,5% do peso seco das algas marinhas, bem como, o baixo rendimento pode ser devido à baixa temperatura de extração. Com o material isolado foram feitas análises de teor de nitrogênio, carbono e sulfato utilizando a técnica de microanálise elementar, onde determina as quantidades de Carbono (C), Hidrogênio (H), Nitrogênio (N), Enxofre (S) e Oxigênio (O) presentes na amostra. Com isso, trata-se de uma técnica econômica utilizada para avaliar a pureza e a composição química dos compostos, esta microanálise exige uma análise detalhada a um nível elementar no qual reações químicas e fenômenos elétricos podem ser isolados e modelados, com isso, foi determinado o teor de nitrogênio de polissacarídeo sulfatado (1,22%), carbono (40%), sulfato (2%) e proteína (7,6%). Diante disso, pode-se realizar uma comparação entre o polissacarídeo *G. birdiae* do Brasil ter um teor de sulfato (6,4%) enquanto outras espécies de *Gracilaria* podem possuir valores menores e maiores (2,3-8,9%), a depender da espécie estudada.

Sob esse viés, os PS da alga *G. birdiae* foram caracterizados estruturalmente por técnicas espectrométricas de absorção no infravermelho (FT-IR) e de ressonância magnética nuclear (RMN) uni e bidimensional por Maciel et al. (2008), que os consideraram como galactanas do tipo agarana. O FT-IR de *G. birdiae* é representado por bandas características de agarocolóides, para *G. birdiae* (1375, 1258, 1076, 933, 890, 775 cm^{-1}). A região cerca de 800-850 cm^{-1} é utilizada para inferir a posição do grupo do sulfato nos agarocolóides. As faixas a 845, 830 e 820 cm^{-1} são atribuídas ao destino 4- sulfato, 2-sulfato e 6-sulfato de unidades D-galactose, mostra uma baixa intensidade banda, a 850 cm^{-1} , atribuída à substituição do sulfato no C-4 de galactose. A ausência de bandas a 805 cm^{-1} indica que a galactose de 2-sulfato, e o sulfato no C-2 de 3,6-anidro-a-L-galactose não estavam presentes.

Bem como, a ressonância magnética nuclear (RMN) uni e bidimensionais foram utilizadas para investigar a estrutura dos polissacarídeos da alga *G. birdiae*, com isso, a amostra extraída a frio, por ser menos viscosa, permitiu a obtenção de espectros de RMN mais resolvidos e serviu para fazer os assinalamentos de H e C nos espectros de RMN do

polissacarídeo da *G. birdiae*. O RNM 1D e 2D foram empregados com a finalidade de investigar a estrutura polissacarídica de *G. birdiae*, demonstrando assim os seguintes dados, os sinais do próton anomérico em δ 5,13 e 5,28 ppm foram atribuídos a 3,6 α -L-anidrogactose (LA) e α -L-gactose-6-sulfato (L-6S), respectivamente. O H-1 de β -D-gactose(G) ligado a α -L-gactose 6-sulfato e o de β -D gactose (G) foi ligado a 3,6 α -L-anidrogactose, em δ 4,43 e 4,54, respectivamente. Diante disso, Maciel e colaboradores (2008) realizaram a primeira publicação sobre a caracterização química dos PS. Dessa forma, estudaram o isolamento e a caracterização estrutural do produto solúvel em água fria da fração de polissacarídeo retirado da alga marinha *G. birdiae*. Após a realização dos experimentos determinou-se que o PS solúvel em água de *Gracilaria birdiae* extraído à temperatura ambiente (25–28 °C) é composto por β -D-gactopiranoose (50,3%), 3,6-anidro- α -L-gactopiranoose (40,5%) e α -L-gactopiranoose-6 sulfato (9,2%). O teor de sulfato é de 6,4%. A proporção de unidades L/ D é de 1,01, muito próxima da proporção ideal de agarose. A estrutura é formada por segmentos 3,6-anidro- α -L-gactopiranoose β -D-gactopiranoose, com a possibilidade de uma unidade α -L-gactopiranoose substituída na posição 6 por éster sulfato.

Porém de acordo com Souza e colaboradores (2012), a alga vermelha foi moída e lavada com água à temperatura ambiente e o resíduo restante foi exaustivamente extraído com água quente, este método revelou ter um maior rendimento do que a extração a frio, Maciel et al, 2008 estudou a caracterização estrutural da fração extraída a frio de PS de *G. birdiae* e mostrou que o baixo rendimento pode ser devido à baixa temperatura de extração.

A extração com água quente originada níveis de sulfato de 8,4%, superiores aos encontrados na literatura para outras espécies tropicais de *Gracilaria*. Com isso, após a realização dos testes Composição de monossacarídeos e distribuição de massa molar, Análise FTIR, RMN e Caracterização reológica foi determinado que a alga marinha vermelha *G. birdiae* é composto de gactose (65,4%) e derivados de metil 6-O-metil gactose (9,2%) e em menores quantidades 3-O- e 4-O-metil gactose (0,33%). Este polissacarídeo também apresenta alto teor de 3,6- anidrogactose (25,1%) e possui teor de sulfato de 8,4%.

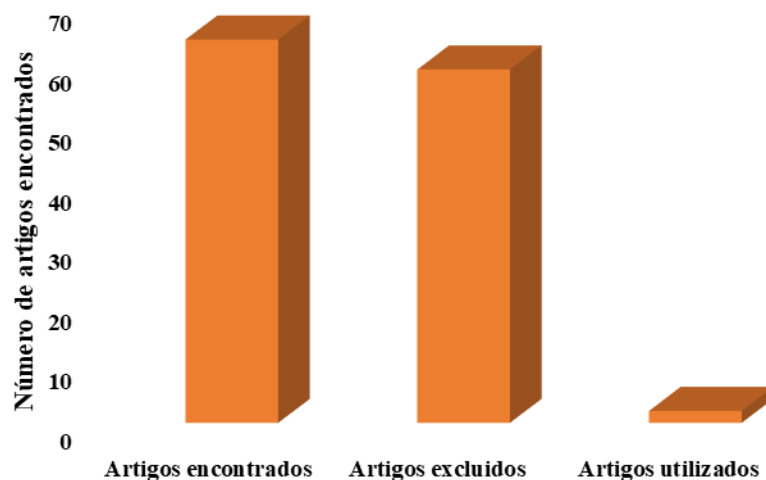
O DPPH que foi utilizado para determinar a atividade antioxidante o efeito de eliminação de radicais livres de cada amostra foi medido e os resultados demonstraram que o PS possui um efeito notável na inibição da formação desses radicais (IC₅₀ =1,62 mg mL). No entanto, nenhuma das amostras apresentou atividade do que o BHT na mesma concentração que foi o antioxidante sintético utilizado como amostra.

Em relação aos resultados obtidos para a inibição do radical hidroxila (OH), a formação demonstrou que a atividade de eliminação do polissacarídeo de *G.birdiae* aumentou significativamente ($p < 0,05$) para concentrações mais altas de polissacarídeo. O valor de IC50 de *G.birdiae* eliminando OH foi de cerca de 1,73 mg mL, o que indica que a eliminação atividade de *G. birdiae* contra OH foi menor que a de BHT. Portanto, concluiu que a atividade sequestrante de OH de diferentes polissacarídeos estava relacionada com a presença da mesma estrutura característica em que todos os polissacarídeos tinham um ou mais OH e grupos de OSO₃H na molécula. Esses resultados provaram que o teor de sulfato teve um efeito significativo na atividade de eliminação de OH. Onde mostraram que a iota-carragenina teve uma maior efeito inibitório na formação de OH em relação ao lambda- e kappa-carragenanas. Por este viés, esses trabalhos demonstraram que a presença de grupos sulfato em polissacarídeos de algas marinhas é responsável por inúmeros tipos de atividades biológicas, como antioxidante.

5.2. *Gracilaria caudata*

Para a espécie *G. caudata* foram encontrados 64 artigos científicos, no entanto, foram encontrados apenas 2 artigos em que se abordavam a estrutura química do PS, juntamente com sua atividade antioxidante. Demonstrando assim, que os pesquisadores optam por realizar experimentos voltados as atividades biológicas e em menor frequência em elucidação dos polissacarídeos que são extraídos destas algas (Figura 14).

Figura 14. Dados sobre os artigos encontrados após as pesquisas nas plataformas de busca sobre a espécie *G.caudata*.



Portanto, de acordo com Alencar e colaboradores (2019), foram realizados alguns ensaios como espectroscopia de infravermelho, espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN), ensaios de atividade antioxidante *in vitro*, ensaio de atividade quelante de íons ferrosos, com intuito de, avaliar o potencial antioxidante dos PS extraídos das algas marinhas *G. caudata*.

Bem como, o espectro FT-IR mostra bandas características de polissacarídeos do tipo ágar (891, 930, 1075 e 1258 cm^{-1}), onde a posição do grupo sulfato pode ser inferidas por bandas na região de 800-850 cm^{-1} . Vários dados de referência mostram que as bandas em 845 e 830 cm^{-1} podem ser atribuídas, respectivamente, aos grupos 4-*O*-sulfato e 2-*O*-sulfato presentes nas unidades de D-galactose, enquanto a banda em 820 e 805 cm^{-1} é devido a sulfatação em C6 de L-galactose e C2 de 3,6- anidro-L-galactose.

Sendo que, o polissacarídeo *G. caudata* não mostrou nenhum sinal resolvido em 845, 830 e 805 cm^{-1} indicando a ausência de sulfatação em C-4 e C-2 de d-galactose e em C-2 de 3,6-anidro-l-galactose, pode se observar também o sinal de baixa intensidade em 821 cm^{-1} foi atribuído à sulfatação de C-6 de resíduos de 1-galactosil, o precursor biológico da 3,6-anidro-L-galactose.

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) de H e C é um método eficiente para analisar as características estruturais de polissacarídeos de algas marinhas. O espectro de H RMN revelou picos em δ 5,14 e δ 4,56 ppm, sendo um indicativo de prótons anoméricos de 3,6- α -L-anidrogalactose (LA) e β -D- galactose (L) ligados a LA, respectivamente. O sinal em δ 5,22 ppm é atribuído a próton anomérico do resíduo L-galactose ligado a piruvato-D-galactose resíduo (BARROS *et al.*, 2013).

Com isso, de acordo com os dados obtidos nos experimentos realizados concluíram que o polissacarídeo isolado de *G. caudata* é do tipo ágar composto principalmente por D-galactopirranose ligada a 3,6-anidro-L-galactose com metil ou piruvato substituído grupos em C-6 de D-galactose e com um pico de massa molecular de $2,5 \times 10^5 \text{g mol}^{-1}$. O teor de sulfato é de 1% (BARROS *et al.*, 2013).

Sobre a atividade antioxidante, foram realizados ensaios que avaliaram a atividade quelante do íon ferro II. Para isso foi utilizada a ferrozina, um reagente cromogênico, que torna a solução rósea de acordo com a quantidade de ferro disponível em solução. Assim, quanto maior a quelação de íon na amostra, menor o número de íons disponíveis para a reação com a ferrozina e menor será a absorbância. Os antioxidantes contribuem para a quelação de metais de transição, que em excesso podem levar a peroxidação lipídica, com consequente lesão às membranas plasmáticas e à oxidação do DNA (Alencar *et al.*, 2019). O ensaio de quelação de

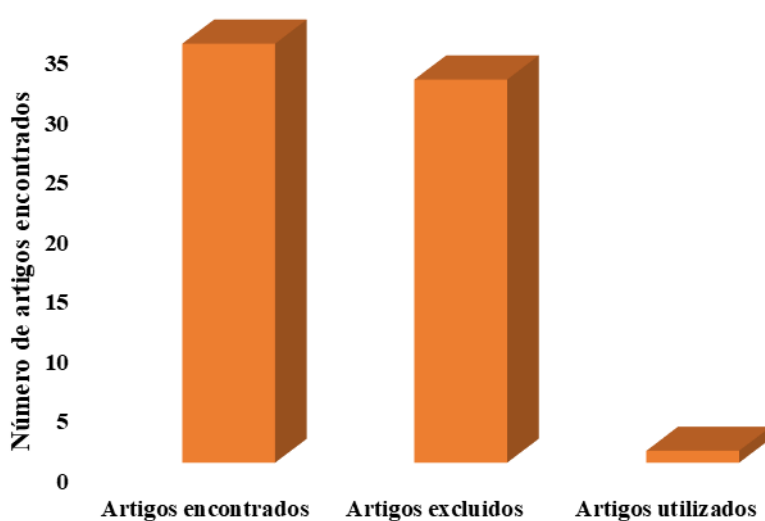
íons ferrosos foi realizado com 1 mL de sulfato ferroso 0,1 mM (FeSO₄), 1 mL de amostra de PS de *G. caudata* em concentrações diferentes (0,1 mg/mL; 0,5 mg/mL; 1 mg/mL; 2 mg/mL e 4mg/mL) e 1 mL de 0,25 mM de ferrozina (3-(2-piridil)-5,6-difenil-1,2,4-triazina-p,p'-ácido dissulfônico) foram misturados. Os tubos foram agitados em vórtex por 1 min. Após 10 min, a absorbância foi medida em um espectrofotômetro a 562 nm, todas as reações foram realizadas em triplicado, utilizando o EDTA como controle positivo.

Os resultados do ensaio de atividade antioxidante mostram que os PS tem uma excelente atividade quelante dependente da concentração a uma concentração de 4 mg/ml (69,80%) enquanto que o EDTA-controle mostrou uma capacidade quelante ferrosa de 95,60% em a mesma concentração. Essa capacidade quelante de íons pode ser explicada pela natureza nucleofílica dos elétrons livres dos grupos hidroxila e sulfato presente na estrutura química do PS da *G. caudata*. Demonstrando assim que a atividade antioxidante foi considerada satisfatória.

5.3. *Gracilaria intermedia*

Foram obtidos um total de 35 artigos científicos da espécie *G. intermédia*, devido ao fato de que a pesquisa científica relacionada a estrutura química da *G. intermedia* ainda é escassa foram encontrados apenas 1 artigo que demonstrava sua estrutura química elucidada e seu potencial em relação a atividade antioxidante (Figura 15).

Figura 15. Dados sobre os artigos encontrados após as pesquisas nas plataformas de busca sobre a espécie *G.intermédia*.



De acordo com Castro e colaboradores (2018) a estrutura química do PS de *G. intermedia* foi analisada por diversos experimentos, com isso foram realizados, a extração onde as algas coletadas foram limpas de epífitas, lavadas com água destilada e armazenadas a -20 °C. O tecido seco (5 g) foi suspenso em 250 mL de tampão acetato de sódio 0,1 mol.L⁻¹ (pH 5,0), contendo 1 g de papaína, 5×10⁻³ mol.L⁻¹ EDTA e 5×10⁻³ mol.L⁻¹ cisteína e incubados a 60°C por 30 min. A solução foi então filtrada através de uma membrana de nylon e o homogenato foi retido. Os polissacarídeos em solução foram precipitados com 16 mL de solução de cloreto de cetilpiridínio (CPC) a 10%. Após 24 h à temperatura ambiente (25°C), a mistura foi centrifugada a 2.560 × g por 20 min a 20°C. Após isso, os PS foram lavados com acetona, seguido de secagem com ar quente (60 °C) até que toda a acetona fosse removida. Em seguida iniciou a análise química, o teor de sulfato de PS foi determinado pelo método de gelatina de bário após hidrólise da amostra em HCl 1 mol.L⁻¹ (5 h, 105 °C) usando sulfato de sódio (Na₂SO₄) como padrão. Iniciando em seguida a composição de monossacarídeos onde essa composição do polissacarídeo extraído de *G. intermedia* foi determinada com base na análise de cromatografia gasosa/espectrometria de massa dos acetatos de alditol formados após hidrólise ácida, Amostras dos polissacarídeos extraídos de *G. intermedia* (5 mg) foram hidrolisados com ácido trifluoroacético 5 mol.L⁻¹ por 4 h a 100°C, reduzidos com borohidreto, e os alditóis foram acetilados com anidrido acético:piridina (1:1, v/v). Sendo a galactose.o principal monossacarídeo detectado.

Logo após foi realizada a espectroscopia de infravermelho, os espectros de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foram obtidos com um espectrofotômetro Shimadzu IR com medidas na faixa de número de onda de 400-4000 cm⁻¹ usando 20 varreduras. As amostras foram analisadas como pastilhas de KBr. Com isso, as medidas na faixa de número de onda de 400-4000 cm⁻¹ usando 20 varreduras (1375, 1258, 1075, 931, 892, 860,821,772 cm⁻¹) as bandas encontradas em 1375 e 1258 cm⁻¹ podem ser atribuídas a grupos éster de sulfato, a banda em 1075 cm⁻¹ corresponde para galactana e a banda em 892 cm⁻¹ corresponde à banda específica de ágar. A banda em 931 cm⁻¹ atribuída ao estiramento do o grupo (C-O-O) presente na 3,6-anidrogactose, e as bandas entre 820 e 860 cm⁻¹ indicam a presença de grupos sulfato.

Diante disso, a estrutura química do polissacarídeo de *G. intermedia* foi analisada por ressonância magnética nuclear (RMN), 1D (H e C) e 2D da fração de polissacarídeo extraída de *G. intermédia* que é um método comumente utilizado para caracterização estrutural de polissacarídeos de algas marinhas. O espectro de RMN H é um pouco complexo devido à sobreposição e ampliação dos sinais, com isso, ele mostra os sinais do próton α -anomérico em

δ 5,62, 5,14 e 4,69 (atribuído, respectivamente, 3,6- α -L-anidrogactose ligada a β -D-galactose, α -L-galactose 6-sulfato ligada a β -D-galactose e β -D-galactose ligados a 3,6- α -L-anidrogactose), No entanto, a H-1 β -D-galactose ligada ao α -L-galactose-6-sulfato não foi detectada, provavelmente devido à sobreposição do sinal. Outros estudos afirmam que quando esta unidade está ligada com α -3,6-anidrogactose e L- α -L-galactose-6-sulfato, ocorrem pequenas variações químicas na região de 4,65-3,90 ppm. Com isso, o polissacarídeo extraído foi classificado como um ágar apresentando esqueleto carbônico composto principalmente de β -D-galactopiranosose ligado a 3,6 α -L-anidrogactose com grupos substituintes de metil e ácido pirúvico (CASTRO *et al.*, 2018).

Logo, para a determinação da atividade antioxidante, a capacidade antioxidante total foi determinada pela formação de um complexo de fosfomolibdênio quando Mo^{6+} é reduzido a Mo^{5+} , onde alíquotas da solução polissacarídica (0,1 mL) de diferentes concentrações (0,1% a 1,5%) foram misturadas com 1 mL da solução reagente (ácido sulfúrico 0,6 mol.L⁻¹, fosfato de sódio 28×10^{-3} mol.L e molibdato de amônio 4×10^{-3} mol.L⁻¹). Esta etapa foi seguida por incubação a 95°C por 90 min. Subsequentemente, a absorbância foi lida em 695 nm. Uma curva padrão sob as mesmas condições foi preparado com soluções de ácido ascórbico. Assim, os resultados são apresentados como equivalência de ácido ascórbico (mg/g EAAsc). A capacidade antioxidante total foi determinada pela formação de um complexo de fosfomolibdênio quando Mo^{6+} é reduzido a Mo^{5+} ; PLS mostrou atividade com $28,98 \pm 1,86$ mg/g EAAsc. A capacidade do PS de quelar íons de ferro (II) foi dependente da dose. Embora o PLS tenha levado a maior porcentagem de quelação do que os obtidos a partir do ácido ascórbico sua atividade é baixa se comparada a outros polissacarídeos extraídos de algas marinhas (CASTRO *et al.*, 2018). A capacidade de eliminação do radical DPPH do PS também foi dose-dependente, com um bloqueio variando de $9,89 \pm 1,32\%$ (na concentração de 0,1%) a $41,83 \pm 0,97\%$ (na concentração de 1,5%). Embora significativa, a capacidade de eliminação do radical DPPH do PS foi menor do que o ácido ascórbico na faixa de concentração testada e também menor do que a atividade de outros polissacarídeos de algas marinhas, Com isso, estudos *in vitro* mostraram que o PS possui atividade antioxidante (COSTA *et al.*, 2020).

6. CONCLUSÃO

Inicialmente, foi notório o baixo número de artigos apresentando elucidação completa da estrutura química desses PS e suas respectivas potencialidades biológicas onde foram encontrados um total de 5 artigos que relatavam as informações sobre essas estruturas químicas e sua atividade antioxidante. Os dados estruturais encontrados necessita de uma elucidação mais completa sobre sua estrutura química, onde são representadas por uma imagem dessa estrutura e não somente sua nomenclatura. Embora existam diversas atividades biológicas comprovadas na literatura, o presente estudo focou apenas em demonstrar a atividade antioxidante presente nesses PS que são extraídos das algas marinhas das espécies do gênero *Gracilaria*.

Visto que, das 44 espécies das algas encontradas do gênero *Gracilaria*, somente três espécies, tais como *G. birdiae*, *G. caudata* e *G. intermédia* apresentaram as nomenclaturas das respectivas estruturas químicas e ambas apresentaram a atividade antioxidante. Restando assim um número significativo de espécies a serem estudadas. Devido à grande importância na relação entre estrutura-atividade, esta revisão serve como referência para que possa surgir novos estudos sobre esta caracterização estrutural e suas atividades biológicas a serem abordadas sobre estes PS extraídos das diversas algas marinhas do gênero *Gracilaria*.

Dessa forma, o atual estudo constitui-se como investigação referente a estrutura química encontrada na literatura e seu potencial antioxidante das espécies de macroalgas marinhas do gênero *Gracilaria*, considerando que não existem muitos relatos a respeito, e dentre as espécies analisadas, a *G. birdiae*, *G. caudata* e *G. intermédia* demonstraram ser promissoras, uma vez que apresentaram interessante potencial antioxidante e suas respectivas estruturas químicas, o que torna as outras diversas espécies alvo de novos estudos a fim de avaliar novas estruturas químicas.

7. REFERÊNCIA

ALENCAR, P. O. C.; et al. **A novel antioxidant sulfated polysaccharide from the algae *Gracilaria caudata*: in vitro and in vivo activities.** Food Hydrocolloids, [s. l.], v. 90, p. 28-34, 2019.

ARIF, Jamal M. et al. **Novel marine compounds: anticancer or genotoxic?.** Journal of Biomedicine and Biotechnology, v. 2004, n. 2, p. 93-98, 2004.

ARMISEN, R.; GAIATAS, F. Agar. **Handbook of hydrocolloids.** [s. l.], Woodhead Publishing, 2009. p. 82-107.

BARROS, Francisco CN et al. **Structural characterization of polysaccharide obtained from red seaweed *Gracilaria caudata* (J Agardh).** Carbohydrate Polymers, v. 92, n. 1, p. 598-603, 2013.

BARROS, Joanna de Angelis da Costa. **Alga marinha *Gracilaria birdiae*: avaliação de atividades biológicas in vivo e in vitro e utilização em preparações culinárias.** 2018. 109f. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) - Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2018.

BELATTMANIA, Zahira et al. ***Gracilaria gracilis* (Gracilariales, Rhodophyta) from Dakhla (Southern Moroccan Atlantic Coast) as Source of Agar: Content, Chemical Characteristics, and Gelling Properties.** Marine drugs, v. 19, n. 12, p. 672, 2021.

BEZERRA, A. F.; MARINHO-SORIANO, E. **Cultivation of the red seaweed *Gracilaria birdiae* (Gracilariales, Rhodophyta) in tropical waters of northeast Brazil.** Biomass and bioenergy, v. 34, n. 12, p. 1813-1817, 2010.

BHATIA, S. et al. **In vitro antioxidant and antinociceptive properties of *Porphyra vietnamensis*.** BioMedicine, [s. l.], v. 9, n. 1, 2019.

BLONDIN, C.; DE AGOSTINIZ, A. **Biological activities of polysaccharides from marine algae.** Drugs Fut, v. 20, n. 12, p. 1237-1249, 1995.

BLUNT, John W. et al. **Marine natural products**. Natural product reports, v. 23, n. 1, p. 26-78, 2006.

BRAVIN, I.C. & Yoneshigue-Valentin, Y. **The influence of environment factors on in vitro growth of *Hypnea musciformis* (Wulfen) Lamouroux (Rhodophyta)**. Rev. Bras. Bot., v.25, p.469-474, 2002.

CARDOZO, Karina HM et al. **Metabolites from algae with economical impact**. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, v. 146, n. 1-2, p. 60-78, 2007.

CASTRO, Joana Paula Lima de et al. **Polysaccharides of red alga *Gracilaria intermedia*: structure, antioxidant activity and rheological behavior**. Polímeros, v. 28, p. 178-186, 2018.

CERQUEIRA, Fernanda Menezes; MEDEIROS, Marisa Helena Gennari de; AUGUSTO, Ohara. **Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas**. Química Nova, v. 30, p. 441-449, 2007.

CHAVES, L. S. et al. **Antiinflammatory and antinociceptive effects in mice of a sulfated polysaccharide fraction extracted from the marine red algae *Gracilaria caudata***. Immunopharmacology and immunotoxicology, v. 35, n. 1, p. 93-100, 2013.

CHIARAMONTE, Amanda Rodrigues. **Efeitos da temperatura em *Gracilaria caudata* (Gracilariales, Rhodophyta): estudos fisiológicos em diferentes populações da costa brasileira**. 2022. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

COSTA, L.S. **Atividades biológicas de Polissacarídeos Sulfatados extraídos da alga vermelha *Gracilaria caudata***. 2008. Dissertação (Mestrado em bioquímica) – Departamento de Bioquímica, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, UFRN, Natal/RN.

COSTA, L. S. et al. **Biological activities of sulfated polysaccharides from tropical seaweeds**. Biomedicine & Pharmacotherapy, v. 64, p. 21–28, 2010.

COSTA, D. S. et al. **Sulphated polysaccharide isolated from the seaweed *Gracilaria caudata* exerts an antidiarrhoeal effect in rodents.** Basic & clinical pharmacology & toxicology, v. 118, n. 6, p. 440-448, 2016.

COSTA, L. E. C. **Caracterização químico-estrutural, propriedades reológicas e atividades biológicas do polissacarídeo hidrolisado e sulfatado da alga *Gracilaria intermedia*.** 2020. 118 f. Tese (Doutorado em Bioquímica) - Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2020.

COURA, Chistiane O. et al. **Antinociceptive and anti-inflammatory activities of sulphated polysaccharides from the red seaweed *Gracilaria cornea*.** Basic & clinical pharmacology & toxicology, v. 110, n. 4, p. 335-341, 2012.

CRAIGIE, J. S. **Biology of the red algae.** Cell Walls, p. 221-257, 1990.

DE SOUZA, Micheline Cristiane Rocha et al. **Antioxidant activities of sulfated polysaccharides from brown and red seaweeds.** Journal of applied phycology, v. 19, n. 2, p. 153-160, 2007.

FARIAS, W.R.L.; Valente, A.P.; Pereira, M.S. & Mourão, P.A.S. **Structure and anticoagulant activity of sulfated galactans. Isolation of a unique sulfated galactan from the red alga *Botryocladia occidentalis* and comparison of its anticoagulant action with that of sulfated galactans.** J. Biol. Chem., Bethesda, v.275, n.38, p.29299-29307, 2000.

FARIAS, Eduardo HC et al. **A preponderantly 4-sulfated, 3-linked galactan from the green alga *Codium isthmocladum*.** Glycobiology, v. 18, n. 3, p. 250-259, 2008.

FERDOUSE, Fatima et al. **The global status of seaweed production, trade and utilization.** Globefish Research Programme, v. 124, p. I, 2018.

FERREIRA, Jefferson Silva. **Atividade antioxidante dos polissacarídeos sulfatados da rodofícea *Gracilaria birdiae* em carne mecanicamente obtida de resíduos de filetagem de Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*).** Monografia apresentada ao Departamento de Engenharia de Pesca do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará 2019.

FERREIRA, Ana Beatriz Gomes et al. **Saberes e práticas tradicionais na extração e cultivo de macroalgas marinhas.** Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais, v. 11, n. 6, p. 661-671, 2020.

FLORÊNCIO, Isanna Menezes et al. **Estudo da extração de ágar da macroalga *Gracilaria caudata* J. Agardh para utilização em fins alimentícios.** Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável, v. 7, n. 2, p. 71-78, 2012.

GARDEVA, E. et al. **Cancer protective action of polysaccharide, derived from red microalga *Porphyridium cruentum*—a biological background.** Biotechnology & Biotechnological Equipment, v. 23, n. sup1, p. 783-787, 2009.

GUIMARÃES ARAÚJO, Patrícia. **Ecologia populacional de *Gracilaria birdiae* (Gracilariales, Rhodophyta) na Área de Proteção Ambiental da Barra do Rio Mamanguape, Paraíba-Brasil.** 2005. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.

GURGEL RODRIGUES, José Ariévilto et al. **Extração e atividade anticoagulante dos polissacarídeos sulfatados da alga marinha vermelha *Halymenia pseudofloresia*.** Revista Ciência Agronômica, v. 40, n. 2, 2009a.

HAN, Fang et al. **Experimental study on anticoagulant and antiplatelet aggregation activity of a chemically sulfated marine polysaccharide YCP.** International Journal of Biological Macromolecules, v. 36, n. 4, p. 201-207, 2005.

HAROUN-BOUHEDJA, Ferial et al. **Relationship between sulfate groups and biological activities of fucans.** Thrombosis research, v. 100, n. 5, p. 453-459, 2000.

JASWIR, I., & MONSUR, H. A. (2011). **Anti-inflammatory compounds of macro algae origin: A review.** Journal of Medicinal Plants Research, 5, 7146–7154.

JIAO, Guangling et al. **Chemical structures and bioactivities of sulfated polysaccharides from marine algae.** Marine drugs, v. 9, n. 2, p. 196-223, 2011.

JUDD, W. S., C. S. CAMPBELL, E. A. KELLONGG, P. F. STEENS & M. J. DONOGUE. 2009. **Sistemática Vegetal: um enfoque filogenético**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 612 p.

KATZ, Miriam E. et al. **Evolutionary trajectories and biogeochemical impacts of marine eukaryotic phytoplankton**. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, v. 35, p. 523-556, 2004.

LAHAYE, M., YAPHE, W., Viet, M. T. P., & Rochas, C. (1989). **¹³C -NMR spectroscopic investigation of methylated and charged agarose oligosaccharides and polysaccharides**. *Carbohydrate Research*, 190(2), 249 -265.

LIU, B. et al. **The anti-diarrhea activity of red algae-originated sulphated polysaccharides on ETEC-K88 infected mice**. *RSC Advances*, [s. l.], v. 9, n. 5, p. 2360-2370, 2019.

MACIEL, Jeanny S. et al. **Structural characterization of cold extracted fraction of soluble sulfated polysaccharide from red seaweed *Gracilaria birdiae***. *Carbohydrate Polymers*, v. 71, n. 4, p. 559-565, 2008.

MAO, W.; ZANG, X.; Li, Y.; Zhang, H. **Sulfated polysaccharides from marine green algae *Ulva conglobata* and their anticoagulant activity**. *J. Appl. Phycol.* 2006, 18, 9-14.

MARLETT, Judith A.; MCBURNEY, Michael I.; SLAVIN, Joanne L. **Position of the American Dietetic Association: health implications of dietary fiber**. *Journal of the American Dietetic Association*, v. 102, n. 7, p. 993-1000, 2002.

MARMITT, Diorge Jônatas et al. **Avaliação quali-quantitativa de algas marinhas macrófitas ocorrentes na Praia da Vigia, Garopaba/SC**. *Revista CEPSUL-Biodiversidade e Conservação Marinha*, v. 4, n. 1, p. 5-15, 2015.

MARQUES, Maxsuell Lucas Mendes. **Atividade anticoagulante in vitro de galactanas sulfatadas obtidas da alga verde *Udota flabellum* (J.Ellis & Solander) M.Howe**. 2018. 36f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2018.

MARINHO-SORIANO, E.; BOURRET, E. **Polysaccharides from the red seaweed *Gracilaria dura* (Gracilariales, Rhodophyta)**. *Bioresource technology*, v. 96, n. 3, p. 379-382, 2005.

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.

MARIANO-SORIANO, E.M.; CARNEIRO, M.A.; SORIANO, J. **Manual de Identificação de Macroalgas Marinhas do Litoral do Rio Grande do Norte**. Natal, RN: Editora da UFRN, 2008.

MAYER, A., et al. **Marine pharmacology in 2012–2013: Marine compounds with antibacterial, antidiabetic, antifungal, anti-inflammatory, antiprotozoal, antituberculosis, and antiviral activities; affecting the immune and nervous systems, and other miscellaneous mechanisms of action**. *Marine drugs*, [s. l.], v. 15, n. 9, p. 273, 2017.

MELO, M. R. S.; FEITOSA, J. P. A.; FREITAS, A. L. P.; PAULA, R. C. M. **Isolation and characterization of soluble sulfated polysaccharide from the red seaweed *Gracilaria cornea***. *Carbohyd Polym.*, v. 49, n. 4, p. 491-498, 2002.

MENDES M. M. et al. **anti-thrombin, anti-adhesive, anti-migratory, and anti-proliferative Activities of sulfated galactans from the tropical green seaweed, *Udotea flabellum***. *Marine Drugs*, [s. l.], v. 17, n. 1, p. 5, 2019.

MICHEL, G. et al. **The cell wall polysaccharide metabolism of the brown alga *Ectocarpus siliculosus*. Insights into the evolution of extracellular matrix polysaccharides in Eukaryotes**. *New Phytologist*, [s. l.], v. 188, n. 1, p. 82-97, 2010.

MILLER, I. J., & FURNEAUX, R. H. (1997). **The Structural Determination of the Agaroid Polysaccharides from Four New Zealand Algae in the Order Ceramiales by Means of ¹³CNMR Spectroscopy**. *Botanica marina*, 40(1 -6), 333 -340.

MONTEIRO, Valdécio Silvano. **Efeito ansiolítico da agarana sulfatada da alga marinha *Gracilaria cornea* em camundongos: estudo neurocomportamental e neuroquímico**. 2019. Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação em Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal do Ceará.

MOURÃO, Paulo. AS; PEREIRA, Mariana. S. **“Searching for alternatives to heparin: sulfated fucans from marine invertebrates”**. Trends in Cardiovascular Medicine, v. 9, p. 225-232, 2000.

OLIVEIRA, E. C., ALVEAL, K., & Anderson, R. J. (2000). **Mariculture of the agar - producing *Gracilarioid* red algae**. Reviews in Fish Biology and Fisheries, 8, 345 –377.

OLIVEIRA, E. C., P. A. HORTA, C. E. AMANCIO & C. L. SANT’ANNA. 2009. **Algas e Angiospermas Marinhas Bênticas do Litoral Brasileiro: Diversidade, Exploração e Conservação**. Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. São Paulo, 60 p.

OLIVEIRA, L. C. B. P. **Propriedades bioativas dos polissacarídeos sulfatados da alga comestível *Gracilaria birdiae***. 2014. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

PATEL, S. Review. **Therapeutic importance of sulfated polysaccharides from seaweeds: updating the recent findings**. 3 Biotech., 2012, In press.

PISOSCHI, Aurelia Magdalena; POP, Aneta. **The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review**. European journal of medicinal chemistry, v. 97, p. 55-74, 2015.

PLASTINO, E.M. 1985. **As espécies de *Gracilaria* (Rhodophyta, Gigartinales) da Praia Dura, Ubatuba, SP. - aspectos biológicos e fenologia**. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo.

PLASTINO, E.M. & OLIVEIRA, E.C. 1988. **Sterility barriers among species of *Gracilaria* (Rhodophyta, Gigartinales) from the São Paulo littoral, Brazil**. British Phycological Journal 23:267-271.

PLASTINO, Estela M. et al. **Codominant inheritance of polymorphic color variants of *Gracilaria domingensis* (Gracilariales, Rhodophyta)**. Genetics and Molecular Biology, v. 22, n. 1, p. 105-108, 1999.

PLASTINO, E.M. & Oliveira, E.C. ***Gracilaria birdiae* (Gracilariales, Rhodophyta), a new species from the tropical South American Atlantic with a terete frond and deep spermatancial conceptacles**. Phycologia, v.41, p.389-396, 2002.

PORSE, H.; RUDOLPH, B.. **The seaweed hydrocolloid industry: 2016 updates, requirements, and outlook**. Journal of Applied Phycology, [s. l.], v. 29, n. 5, p. 2187-2200, 2017.

RADONIĆ, Aleksandar et al. **Anionic polysaccharides from phototrophic microorganisms exhibit antiviral activities to Vaccinia virus**. J Antivir Antiretrovir, v. 2, p. 051-05, 2010.

RAPOSO, Maria Filomena de Jesus; DE MORAIS, Rui Manuel Santos Costa; DE MORAIS, Bernardo. **Bioactivity and applications of sulphated polysaccharides from marine microalgae**. Marine drugs, v. 11, n. 1, p. 233-252, 2013.

RAVEN, P. H., R. F. EVERT & S. E. EICHHORN. **Biologia Vegetal**. 7^a. ed. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2007, p. 830.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, SUSAN E. **Biologia Vegetal**, 8 ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014.

RODRIGUES, José Ariévilto Gurgel; COURA, Chistiane Oliveira; BENEVIDES, Norma Maria Barros. **Extração e caracterização físico-química dos polissacarídeos sulfatados da rodofícea *Gracilaria cornea* J. Agardh e avaliação de seus efeitos sobre coagulação in vitro/Extraction and physical-chemical characterization of sulfated polysaccharides from the rhodophyceae *Gracilaria cornea* J. Agardh and evaluation of their effects on coagulation in vitro**. Acta of Fisheries and Aquatic Resources, v. 4, n. 2, p. 91-100, 2016.

RODRIGUES, J. A. G. et al. **Avaliação do potencial anticoagulante de polissacarídeos sulfatados de macroalgas marinhas**. Rev Bras Eng Pesca, v. 5, p. 56-69, 2010.

RODRÍGUEZ, María Cecilia et al. **Agar from *Gracilaria gracilis* (Gracilariales, Rhodophyta) of the Patagonic coast of Argentina—Content, structure and physical properties.** *Bioresource technology*, v. 100, n. 3, p. 1435-1441, 2009.

SALLES, José Pedrassoli et al. **Potencial de cultivo de *Gracilaria cornea* (Rhodophyta) em módulos submersos afastados da costa.** 2006

SANTOS RAYMUNDO, Melissa; HORTA, Paulo; FETT, Roseane. **Atividade antioxidante in vitro de extratos de algumas algas verdes (Chlorophyta) do litoral catarinense (Brasil).** *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 40, n. 4, p. 495-503, 2004.

SILVA, J. S. et al. **Natural product inhibitors of ovarian neoplasia.** *Phytomedicine*, v. 10, n. 2-3, p. 221-232, 2003.

SILVA, R.O et al. **Sulfated-polysaccharide fraction from red algae *Gracilaria caudata* protects mice gut against ethanol-induced damage.** *Marine drugs*, v. 9, n. 11, p. 2188-2200, 2011.

SILVA, Renan O. et al. **A sulfated-polysaccharide fraction from seaweed *Gracilaria birdiae* prevents naproxen-induced gastrointestinal damage in rats.** *Marine drugs*, v. 10, n. 12, p. 2618-2633, 2012.

SOUSA, ALBERTINA ANTONIELLY SYDNEY. **Galactana Sulfatada da alga marinha vermelha *Gelidium crinale* (TURNER) Lamouroux: respostas na inflamação e nocicepção (2010).** Dissertação de mestrado. 2010. 92p. Universidade Estadual do Ceará.

SOUSA, W. M. et al. **Sulfated polysaccharide fraction from marine algae *Solieria filiformis*: Structural characterization, gastroprotective and antioxidant effects.** *Carbohydrate polymers*, [s. l.], v. 152, p. 140-148, 2016.

SOUZA, Bartolomeu WS et al. **Chemical characterization and antioxidant activity of sulfated polysaccharide from the red seaweed *Gracilaria birdiae*.** *Food Hydrocolloids*, v. 27, n. 2, p. 287-292, 2012.

SOUZA, R. B. **Alga marinha vermelha Gracilaria cornea: novas perspectivas biotecnológicas e implicações neurofarmacológicas.** 2015. 264 f. Tese (Doutorado em Bioquímica)-Universidade Federal do Ceará, 2015.

TEIXEIRA, V.L. **Produtos naturais de algas marinhas bentônicas.** Revista Virtual de Química, [s. l.], v. 5, n. 3, p. 343-362, 2012.

TORRES, P., SANTOS, J. P., Chow, F., & dos Santos, D. Y. (2019). **A comprehensive review of traditional uses, bioactivity potential, and chemical diversity of the genus Gracilaria (Gracilariales, Rhodophyta).** Algal research , 37, 288 -306.

USOV, A.I.; BILAN, M.I. **Review – fucoidans – sulfated polysaccharides of brown algae.** Russian Chemical, [s. l.], v. 78, n. 8, p. 785-799, 2009.

USOV, A. I., YAROTSKY, S. V., & Shashkov, A. S. (1980). **¹³C - nmr spectroscopy of red algal galactans.** Biopolymers: Original Research on Biomolecules , 19(5), 977 -990.

USOV, A. I. **Structural analysis of red seaweed galactans of agar and carrageenan groups.** Food Hydrocol, v.12, n 3, p. 301–308, 1998.

VAN DE VELDE, F; PEREIRA, L; ROLLEMA, H. S. **The revised NMR chemical shift data of carrageenans.** Carbohydrate Research, v. 339, n. 13, p. 2309-2313, 2004.

VASCONCELOS, Sandra Mary Lima et al. **Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação.** Química nova, v. 30, n. 5, p. 1323-1338, 2007.

VIDOTTI, Eliane Cristina; ROLLEMBERG, MC do E. **Algas: da economia nos ambientes aquáticos à bioremediação e à química analítica.** Química nova, v. 27, n. 1, p. 139-145, 2004.

WANG, Haidong et al. **Global, regional, and national life expectancy, all-cause mortality, and cause-specific mortality for 249 causes of death, 1980–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015.** The lancet, v. 388, n. 10053, p. 1459-1544, 2016.

WIJESEKARA, Isuru; PANGESTUTI, Ratih; KIM, Se-Kwon. **Biological activities and potential health benefits of sulfated polysaccharides derived from marine algae.** Carbohydrate polymers, v. 84, n. 1, p. 14-21, 2011.

ZHANG, Zhongshan et al. **In vitro antioxidant activities of acetylated, phosphorylated and benzoyleated derivatives of porphyran extracted from Porphyra haitanensis.** Carbohydrate Polymers, v. 78, n. 3, p. 449-453, 2009.

ZHAO, Tingting et al. **Degradation of porphyran from Porphyra haitanensis and the antioxidant activities of the degraded porphyrans with different molecular weight.** International Journal of Biological Macromolecules, v. 38, n. 1, p. 45-50, 2006.

ZHOU, G.; Sun, Y.P.; Xin, H.; Zhang, Y.N.; Li, Z. & Xu, Z.H. **In vivo antitumor and immunomodulation activities of different molecular weight lamb-carrageenans from Chondrus ocellatus.** Pharmacol. Res., v.50, n.1, p.47-53, 2004.