



UFRJ
UNIVERSIDADE FEDERAL
DO RIO DE JANEIRO



instituto de
ciências farmacêuticas
Universidade Federal do Rio de Janeiro - Macaé

JÚLIA DE LIMA FERREIRA NOGUEIRA

**ISOLAMENTO E ATIVIDADE ANTICOAGULANTE DE POLISSACARÍDEOS
SULFATADOS DE MACROALGAS MARINHAS VERMELHAS: UMA
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

MACAÉ

2022



UFRJ
UNIVERSIDADE FEDERAL
DO RIO DE JANEIRO



instituto de
ciências farmacêuticas
Universidade Federal do Rio de Janeiro - Macaé

JÚLIA DE LIMA FERREIRA NOGUEIRA

ISOLAMENTO E ATIVIDADE ANTICOAGULANTE DE POLISSACARÍDEOS
SULFATADOS DE MACROALGAS MARINHAS VERMELHAS: UMA REVISÃO
BIBLIOGRÁFICA

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
Coorientadora Prof^a Dr^a Bianca Barros da Costa Silveira

MACAÉ
2022

CIP - Catalogação na Publicação

N778

Nogueira, Júlia de Lima Ferreira

Isolamento e atividade anticoagulante de polissacarídeos sulfatados de macroalgas marinhas vermelhas: uma revisão bibliográfica / Júlia de Lima Ferreira Nogueira - Macaé, 2022.

58 f.

Orientador(a): Leonardo Paes Cinelli.

Coorientador(a): Bianca Barros da Costas.

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

1. Macroalgas. 2. Rodófitas. 3. Galactana sulfatada. 4. Coagulação sanguínea.
I. Cinelli, Leonardo Paes, orient. II. Costas, Bianca Barros da, coorient.
III. Título.

CDD 615.32

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

JÚLIA DE LIMA FERREIRA NOGUEIRA

ISOLAMENTO E ATIVIDADE ANTICOAGULANTE DE POLISSACARÍDEOS
SULFATADOS DE MACROALGAS MARINHAS VERMELHAS: UMA REVISÃO
BIBLIOGRÁFICA

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

Macaé, 12 de dezembro de 2022

Comissão avaliadora:

Prof^a. Dr^a. Bianca Barros da Costa (Presidente da Banca)
CNEC

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

Prof^a. Dr^a. Denise Oliveira Guimarães
Instituto de Ciências Farmacêuticas
CM UFRJ - Macaé

<http://lattes.cnpq.br/3655111598408217>

Prof^a. Dr^a. Thamyris Almeida Moreira
Faculdade Católica Salesiana - Macaé
<http://lattes.cnpq.br/5108866525362544>

Agradecimentos

Agradeço, acima de tudo, à Deus por, em momento nenhum, me deixar só, por ter me sustentado, me cuidado e me abençoado.

Agradeço à minha família incrível que, em todos os momentos, esteve ao meu lado me amparando e me dando forças para continuar quando pensei em desistir. Aos meus pais por todo o cuidado durante esses anos longe, por sempre terem acreditado em mim e torcido e batalhado pelo meu sucesso. Ao meu irmão por sempre conseguir me fazer sorrir quando o desespero me abatia, por sempre segurar as minhas mãos e acreditar em mim e no meu potencial.

Agradeço à minha família espiritual, por me sustentarem em oração e por compreenderem esse tempo em que estive longe.

Agradeço à minha família macaense, que durante esses cinco anos se fez, de alguma forma, presente na minha vida e na minha formação. Às minhas amigas Luiza, Roberta, Isabella, Mayara, Caroline, Geovana, Júlia, Yasmim, Gabriela, Juliana, Nathalia, Giovana, Fernanda B., Beatriz, Fernanda M.. Aos meus amigos Gabriel, Lucas, Vinícius, Roiter, Guilherme, João Victor, João Pedro, Anthony, Rafael, José Matheus, Luiz. Às minhas roommates, Yanna, Jossana, Livia e Luiza (obrigada pela paciência durante os meus surtos). Vocês foram/são fundamentais na minha vida.

Agradeço aos meus amigos de longa data, que por mais distante que eu estava, nunca desistiram de mim. Aos amigos que o ensino fundamental me deu, Luiza, Wesleyne e Lohan. Aos amigos que o ensino médio me deu, Esthefanie, João Pedro, Matheus, Mariana, Rafaela, Ana Kelly, João Victor, Thayane.

Agradeço ao meu orientador Leonardo Cinelli e à minha coorientadora Bianca Barros por toda paciência comigo e por tanto empenho para que tudo acontecesse da melhor forma. Por acreditarem em mim e me auxiliarem em todo o momento, sei que os últimos meses foram longos rs, muito obrigada por tudo!

Agradeço à banca que foi escolhida com muito carinho para este momento ímpar.

Agradeço a todos os professores e profissionais que me ajudaram a galgar os degraus que me fizeram chegar até aqui. Estarão sempre nas minhas lembranças e no meu coração.

Agradeço à FAPERJ, CAPES e PESAGRO pelo auxílio financeiro e o espaço para que as pesquisas sejam realizadas. Em tempos onde a ciência padece, permanecer cientista é um ato de resistência.

*“Quando você atravessar águas profundas,
eu estarei do seu lado, e você não se
afogará. Quando passar pelo meio do fogo,
as chamas não o queimarão. Pois eu sou o
SENHOR, seu Deus, o Santo Deus de Israel,
o seu Salvador.” (Isaías 43: 2-3)*

*“Em algum lugar, alguma coisa incrível está
esperando para ser descoberta.”*

Carl Sagan

Resumo:

Introdução: Algas marinhas são organismos marinhos fotossintetizantes amplamente encontrados na natureza. Elas são divididas de acordo com a pigmentação em três grupos: algas marrons, algas verdes e algas vermelhas. As algas vermelhas expressam diversas classes de compostos de interesse científico e industrial. Uma dessas classes são os polissacarídeos sulfatados (PS). Esta família de moléculas, presente em rodófitas, apresenta ampla diversidade estrutural, sendo constituídos majoritariamente por galactose e podendo apresentar algumas modificações e substituições, especialmente sulfatações em posições específicas. Dada a sua diversidade estrutural, uma série de ensaios biológicos já foram realizados e conseqüentemente atividades foram descritas, sendo uma das mais destacadas a ação anticoagulante. Adicionalmente, alguns destes polímeros possuem mecanismo de ação dependente de serpinas em semelhança à heparina, um medicamento amplamente utilizado na clínica médica, e extraordinariamente também apresentam mecanismo independente de serpina. **Objetivo:** Sendo assim, o presente trabalho trata de mapear, na literatura científica, métodos de extração e isolamento de PS oriundos de algas marinhas vermelhas e como estão organizados quimicamente os PS destas algas, a fim de comparar a atividade anticoagulante de diferentes algas vermelhas. **Metodologia:** A fim de obter tais informações, realizou-se uma revisão utilizando três bases de dados bibliográficas, sendo essas PubMed, Scielo Brasil e Science Direct. Empregando-se os descritores: “sulfated galactan”; “heparin-like”; “red seaweed”; “red algae”; rhodophyta; coagulation; isolation; characterization. As buscas foram realizadas no período de outubro de 2020 à março de 2021 e foram incluídos somente artigos gratuitos e originais. **Resultados:** Várias foram as técnicas de extração encontradas na literatura, como extração com água quente destilada e sob agitação, extração em meios contendo enzimas, extração em meio ácido e extração em meio alcalino, assim como a descrição de seus respectivos rendimentos. As estruturas químicas mais comuns são unidades de galactose unidas por ligações (1→3) e/ou (1→4) com sulfatações em diversas posições. Um alto percentual de galactanas sulfatadas apresentam atividade anticoagulante em ensaios gerais de coagulação sanguínea como o Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada e Tempo de Protrombina, sendo que em ensaios mais específicos, com o uso de proteínas purificadas, elas majoritariamente apresentam ação mediada por antitrombina. Duas rodófitas, *Botryocladia occidentalis* e *Gelidium crinale* se destacam com atividade independente de serpina. **Conclusão:** As galactanas sulfatadas oriundas de rodófitas são excelentes fontes para estudo e compreensão aprofundada da ação anticoagulante em humanos, dada a sua grande variedade estrutural e conseqüente diversidade de ligação a alvos farmacológicos.

Palavra-chave: galactana sulfatada, heparina, macroalga marinha, coagulação sanguínea, rodófitas.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Número de espécies de macroalgas marinhas, ordenado por Região e classe taxonômica.

Figura 2 - Macroalgas marinhas vermelhas (A) *Botryocladia occidentalis*; (B) *Gelidium* sp.

Figura 3 - Mecanismo de regulação do sistema de coagulação sanguínea demonstrando o efeito das serpinas quando ligadas aos fatores intrínsecos ao sistema de coagulação.

Figura 4 - Ilustração de alguns procedimentos simplificados e rotas para extração e isolamento de PS de rodófitas.

Figura 5 – Estrutura química básica diasteromérica alternada de GS de rodófitas.

Figura 6 - Estrutura química de galactanas extraídas das algas vermelhas *Gracilaria cornea* (A), *Gelidiella acerosa* (B), *Botryocladia occidentalis* (C), *Gelidium crinale* (D), *Schizymenia binderi* (E) e *Palisada flagellifera* (F).

LISTA DE TABELAS E QUADROS

Quadro 1 - Exemplos de métodos de extração de PS.

Tabela 2 - Relação de PS extraídos de rodófitas e suas respectivas atividades anticoagulante. Na linha atividade foi escolhido a apresentação dos valores em percentual considerando o tempo controle de 30 segundos. Legenda: Não detectado, (N.D.); Não testado, (N.T); concentração, (Conc.).

LISTA DE ABREVIações

AT: antitrombina

FT-IR: espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier

FX: fator X

FII: protrombina

FIIa: trombina

GS: galactana sulfata

HCII: cofator II de heparina

PS: polissacarídeos sulfatados

RMN: ressonância magnética nuclear

TTPa: tempo de tromboplastina parcial ativada

TP: tempo de protrombina

SUMÁRIO

1. Introdução	13
1.1 Algas	13
1.2 Algas vermelhas	15
1.3 Emprego das algas marinhas	16
1.5 Polissacarídeos sulfatados	17
1.4 Hemostasia e processo de coagulação sanguínea	19
1.6 Métodos de extração	21
2. Justificativa	22
3. Objetivos	23
3.1 Objetivo geral	23
3.2 Objetivos específicos	23
4. Metodologia	24
5. Resultados	25
5.1 Extração e isolamento de PS de algas marinhas vermelhas	25
5.2 Estrutura química de PS de algas marinhas vermelhas	28
5.3 Atividade anticoagulante de PS de algas marinhas vermelhas	32
6. Conclusão	36
Referências bibliográficas	38
Apêndice	44

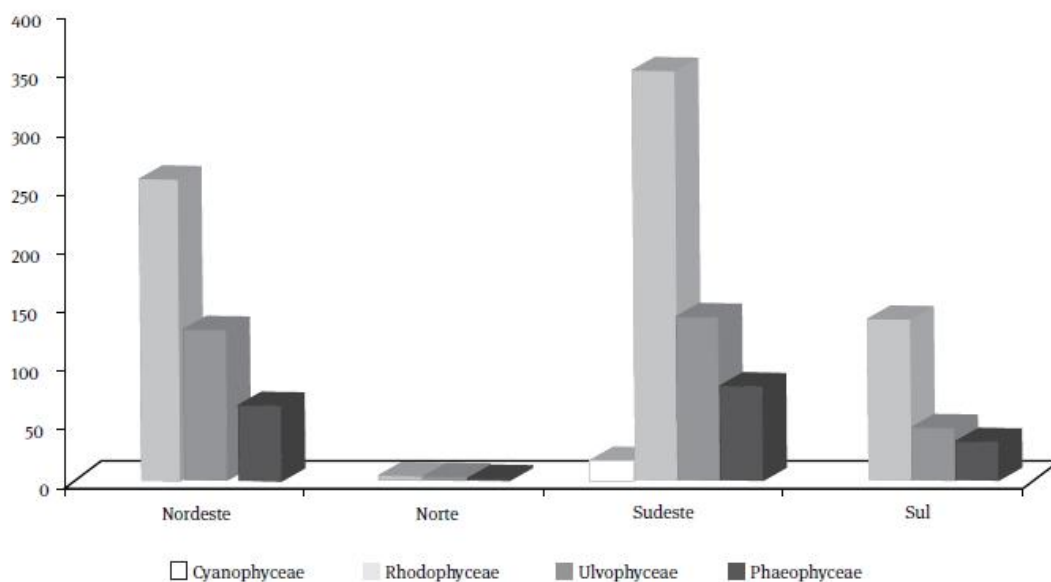
1. Introdução

1.1 Algas

Algas marinhas são organismos marinhos fotossintetizantes, amplamente encontrados em zonas frias, temperadas e tropicais, podendo estar aderidas firmemente ao fundo do mar ou também encontradas soltas no oceano (Budzalek, 2021; Gao, 2021). Podem ser divididas em seres unicelulares ou multicelulares.

De acordo com Forzza, 2010, estima-se que no mundo haja aproximadamente 40.000 espécies de algas, porém, o Brasil carece de estudos a respeito dessas informações, uma vez que estudos calcularam cerca de 5.600 espécies de algas em território brasileiro (Menezes & Bicudo, 2009). Destas, encontra-se 50 espécies de Rhodophyceae epicontinentais e 455 Rhodophyceae marinhas. As macroalgas que apresentam maior diversidade no Brasil são as Rhodophytas, divididas em quatro regiões do país, como pode ser visto na figura abaixo:

Figura 1 - Número de espécies de macroalgas marinhas, ordenado por Região e classe taxonômica.



Fonte: Extraído de *Catálogo de plantas e fungos do Brasil*; Forzza, 2010.

As algas marinhas são divididas de acordo com as suas características, como os pigmentos, os produtos de reserva, cobertura celular e também de acordo com a sua organização celular (Sheath & Wehr, 2015). Dentre os compostos encontrados nas algas, podemos citar os lipídeos, polifenóis, antraquinonas, esteroides, flavonoides, alcaloides, glicosídeos cardíacos e polissacarídeos. Abrangentemente, podemos dividir as algas, de acordo com seus pigmentos, em três grupos: as algas marrons (Phaeophyceae), as algas verdes (Chlorophyceae) e as algas vermelhas (Rhodophyceae), e alguns autores também incluem as cianobactérias (Ulvophyceae) (Pei, 2021; Forzza, 2010).

1.2 Algas Vermelhas

Macroalgas marinhas vermelhas, da ordem das *Rhodophytas* (rhodo – “rosa” e - phyta “planta”), são qualificadas pela presença de pigmentos de ficoeritrina, o que lhe proporciona uma típica aparência avermelhada, mesmo na presença de clorofila que possui coloração esverdeada. As algas vermelhas se fixam tanto na superfície quanto no fundo dos oceanos e podem crescer até 200 metros de profundidade. As *Rhodophytas* são consideradas plantas não vasculares, possuindo diversas formas e tamanhos e não possuem flagelos (Britannica Illustrated Science Library, 2008; Cian, 2015).

As rodófitas constituem um conjunto de mais de 6000 espécies (Guiry et al., 2014). Estão amplamente distribuídas geograficamente, sobressaltando-se nas regiões equatoriais, e podendo ser encontradas em oceanos e também habitando águas-doce (Sheath, 1984; Cian, 2015).

Sua distribuição geográfica também diz respeito à suas formas e tamanhos, sendo encontradas espécies maiores e com talos maciços em regiões frias e temperadas, e espécies menores e filamentosas em áreas tropicais (Cian, 2015).

Em sua parede celular, as macroalgas marinhas vermelhas são compostas, em sua grande maioria, por um componente interno rígido formado por microfibrilas que pode ser celulose ou algum outro polissacarídeo, e uma matriz mucilagínosa, geralmente um polímero de galactose sulfatada, como carragenana, dentre outros compostos como: amido, xilano e porfirina (Raven, 1996; Pei, 2021).

1.3 Emprego das macroalgas marinhas

As algas marinhas possuem diversos nutrientes considerados essenciais e por isso são empregadas em diversas áreas (Pei, 2021). São amplamente utilizadas principalmente na culinária oriental, remontando a 2700 aC na China, sendo utilizada até hoje em todo mundo (Cian, 2015).

Existem várias aplicações para as algas, de acordo com suas propriedades. Elas podem ser utilizadas na indústria alimentícia, como as algas *Porphyra spp.*, uma macroalga marinha vermelha, conhecida na culinária oriental como nori e cultivada há séculos no Japão, China e Coréia (Raven, 1996).

Outra utilização muito característica das algas vermelhas é para a produção do ágar, empregado em diversas indústrias, uma delas a farmacêutica. O ágar, produzido principalmente pelo Japão, é feito se extraindo da parede celular das algas vermelhas uma substância mucilagínosa, é utilizado na produção de cápsulas de medicamentos, base para cosméticos e meio de cultura para análise de microrganismos (Raven, 1996).

Com uma infinidade de utilização, as algas vermelhas se tornam objetos de estudos em diversos segmentos, principalmente no estudo das suas propriedades biológicas.

1.4 Polissacarídeos Sulfatados

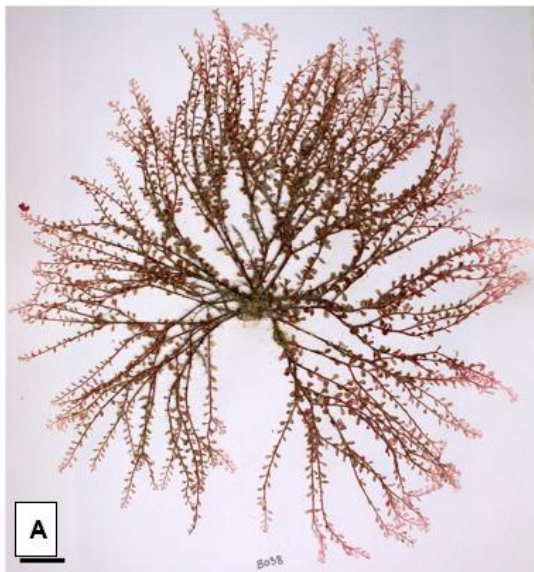
Polissacarídeos sulfatados (PS) são definidos como um complexo grupo de macromoléculas encontrados abundantemente em organismos marinhos. Os principais PS encontrados em algas marinhas são as carragenanas e as fucoidanas, que são compostas, principalmente, por galactose e fucose, respectivamente (Farias, 2000).

A expressão de polissacarídeos diversos, em macroalgas marinhas, pode chegar a 85% do seu peso seco (Kloareg e Quatrano, 1988). Acredita-se que na espécie *Chondrus crispus* mais de 70% do peso da sua parede celular seja relativo a PS (Craigie et al., 1992).

Além de serem altamente expressos em rodófitas, as estruturas químicas dos PS são tão diversas quanto biologicamente ativas. Diversos estudos conduzidos por glicobiologistas demonstram que esses polímeros possuem atividades antiviral, antitumoral, antioxidante, anti-inflamatória, antidiabética, antialérgica e analgésica (Ismail et al., 2020).

Dentre os diversos estudos de avaliação farmacológica, aos quais desafiam PS extraídos de rodófitas, destacam-se os que se dedicam a avaliar seu potencial anticoagulante. Essa busca se justifica, em grande parte, devido a sua semelhança estrutural com a heparina, o principal medicamento anticoagulante de uso parenteral utilizado na clínica médica até hoje (Pomin, 2014 e McRae et al., 2021). Pereira et al. (2005), elucidou a atividade anticoagulante das galactanas sulfatadas de duas algas vermelhas: *Botryocladia occidentalis* e *Gelidium crinale* (figura 2).

Figura 2 - Macroalgas marinhas vermelhas (A) *Botryocladia occidentalis*; (B) *Gelidium* sp.

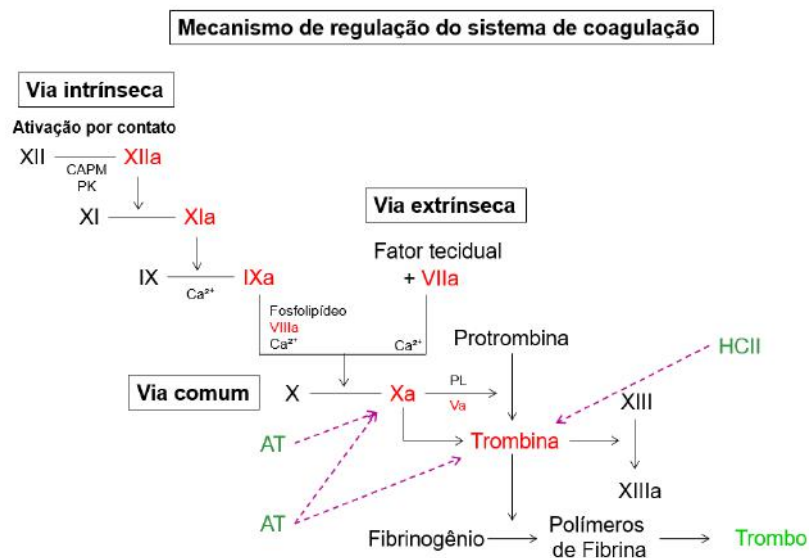


Fonte: Venera-Pontón, 2019 / www.morocco-seaweed.com

1.5 Hemostasia e processo de coagulação sanguínea

A hemostasia compreende o equilíbrio das funções relacionadas ao sistema sanguíneo, envolvendo mecanismos complexos para tal finalidade. Esse equilíbrio vai fazer com que, no local onde há hemorragia, se formem coágulos sanguíneos a fim de interromper o processo hemorrágico (figura 3) (Silva, 2016).

Figura 3: Mecanismo de regulação do sistema de coagulação sanguínea demonstrando o efeito das serpinas quando ligadas aos fatores intrínsecos ao sistema de coagulação.



Legenda: PK- Pré-caliceína; CAPM – Cininogênio de alto peso molecular; PL – Fosfolípidos. A letra “a” minúscula ao lado do número romano significa “ativado”. Adaptado de Ferreira, *et al.*, Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, v. 32, n. 5, p. 416-421, 2010. Nader *et al.*, Current pharmaceutical design, v. 10, n. 9, p. 951-966, 2004.

Em geral, a hemostasia pode ser dividida em três processos: hemostasia primária, secundária e terciária (ou fibrinólise). O primeiro processo acontece de maneira imediata, ocorrendo segundos após a lesão tecidual e tem como finalidade interromper o extravasamento sanguíneo com a formação de tampão plaquetário no local da lesão (Zanela, 2015).

O segundo processo da hemostasia, o maior dentre os três, se inicia com a formação da tromboplastina que juntamente com o íon cálcio e outros fatores plasmáticos converte a protrombina em trombina, com o objetivo final de converter fibrinogênio em fibrina. A rede de fibrina vai reter as células

sanguíneas no local da lesão, formando o trombo e interrompendo o sangramento (Zanela, 2015).

Na fibrinólise, terceira etapa da hemostasia, ocorrerá a dissolução da fibrina pela plasmina, reestabelecendo o fluxo sanguíneo. Todos estes processos envolvem paredes dos vasos sanguíneos, plaquetas e fatores plasmáticos especializados (Zanela, 2015; Silva, 2016).

Quando há o desequilíbrio da hemostasia, se faz necessário o uso de medicamentos anticoagulantes. A heparina foi o primeiro fármaco anticoagulante descoberto, e mesmo com o desenvolvimento de fármacos mais modernos e com outras vias de administração (como a via oral, por exemplo), ela continua sendo amplamente utilizada. Porém, com o avanço de estudos que evidenciaram os efeitos adversos da mesma, como a trombocitopenia observada por Fabris et al. (2000), a busca por novas moléculas com potencial anticoagulante têm aumentado, como por exemplo, a avaliação do potencial de polissacarídeos sulfatados extraídos de algas marinhas (Rocha, 2004).

1.6 Métodos de extração e purificação:

A fim de obtenção dos PS para futuras avaliações biológicas, como as citadas acima, é necessário extraí-los da parede celular das algas, onde se encontram quase totalmente. Porém, é necessário que alguns processos extrativos ocorram para que se consiga extrair o PS com a menor quantidade possível biomoléculas indesejáveis o que tem como consequência um processo purificativo mais eficiente.

Como já elucidado, a parede celular das algas é composta por moléculas como os lipídeos, por exemplo. Esses processos serão responsáveis por eliminar moléculas tais quais os lipídeos sem que influencie na estrutura e atividades biológicas dos PS.

O processo de extração irá garantir que as propriedades dos PS sejam mantidas, como sua reologia e suas propriedades físico-químicas (Ha, 2022). Diversos são os métodos de extração encontrados atualmente na literatura, pode-se citar extração enzimática, extração em meios alcalinos e em meios ácidos, e também extração com água. Geralmente as extrações são feitas sob agitação mecânica e podem ocorrer em baixas ou altas temperaturas. Após a extração, há um processo de recuperação dos PS que eluam na precipitação.

2. Justificativa

São utilizados, atualmente, uma gama de anticoagulantes, sendo a heparina o de maior relevância pela sua eficiência e ação. Porém, existem contraindicações na sua utilização. A heparina, por ser injetável, pode levar a formação de hematomas e desconfortos na aplicação; pode causar, também, trombocitopenia, hemorragias e reações cutâneas (Rocha, 2004; Mourão, 1999).

Com tantos efeitos negativos, a busca por compostos com atividades semelhantes, de origem não animal e com menor contraindicação vêm aumentando mais entre os glicobiologistas (Mourão, 1999).

Nesse sentido, PS extraídos de algas, vêm se mostrando promissores em pesquisas, tanto na sua atividade em estudos *in vitro* quanto em estudos *in vivo* (Ochoa, 2017).

Outro fator muito importante é a vasta diversidade desses produtos na natureza, podendo ser amplamente encontrados geograficamente. Em contrapartida com a heparina, que é extraída de animais, os PS são encontrados abundantemente em organismos marinhos e demonstram menos riscos à saúde humana (Mourão, 1999).

Além de sua grande diversidade, os PS extraídos de algas marinhas são inúmeros e suas estruturas químicas diferenciadas, sendo poucas as elucidadas na literatura. Assim, se carece de informações a respeito das estruturas químicas dos PS extraídos de algas marinhas vermelhas que tenham seu potencial anticoagulante estabelecido, além da descrição dos métodos de extração destes PS e dos testes biológicos para comprovação da atividade anticoagulante.

3. Objetivos

3.1 Objetivo geral

Mapear, na literatura científica, métodos de extração e isolamento de PS oriundos de algas marinhas vermelhas e como estão organizados quimicamente os PS destas algas, a fim de comparar a atividade anticoagulante de diferentes algas vermelhas.

3.2 Objetivos específicos

1. Efetuar uma revisão na literatura sobre diferentes métodos de extração e isolamento utilizados abrangentemente;
2. Compilar dados a respeito da atividade anticoagulante de PS extraídos de algas marinhas vermelhas.

4. Metodologia

A metodologia utilizada no presente trabalho foi a técnica de revisão. Para a elaboração desta revisão, foram primeiramente estabelecidas as bases de dados a serem utilizadas. Desta forma, selecionamos as bases Science Direct (<https://www.sciencedirect.com/>), Scielo Brasil (<https://www.scielo.br/>) e PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>).

Em seguida, foram definidos os descritores para a pesquisa nas bases de dados, por escolha dos autores deste trabalho. Os descritores definidos foram: “sulfated galactan” OR “heparin-like” AND “red seaweed” OR “red algae” OR rhodophyta AND coagulation AND isolation OR characterization. Os operadores booleanos *AND* e *OR* auxiliaram nas buscas.

Como citado acima, todos foram pesquisados em língua inglesa e com o refinamento por somente artigos gratuitos e artigos de pesquisa.

As buscas nas bases de dados indicadas foram realizadas entre os meses de outubro de 2020 e março de 2021, e para tal foi utilizado para corte temporal os artigos encontrados até 2021.

O processo de seleção dos artigos científicos foi realizado por cinco pesquisadores independentes e tomou como base as fases de leitura, sendo ela: exploratória, seletiva, analítica e interpretativa.

A seleção dos artigos, critérios de exclusão, foi baseado na importância, amparando-se no conhecimento prévio dos autores. Os estudos foram então agrupados e analisados criticamente pelos autores do presente trabalho e a elaboração do texto ficou como responsabilidade do primeiro autor.

As discussões e correções das contínuas versões do trabalho foi de responsabilidade dos demais autores, até que todos estivessem de acordo com a versão final.

5. Resultados

5.1 Extração e isolamento de PS de algas marinhas vermelhas

Os PS de macroalgas estão normalmente localizados na parede celular. Em trabalhos anteriores à década de 1990 era frequente encontrarmos o termo “fibrilar” e “amorfo” referindo-se, respectivamente, às fibras de celulose e PS encontrados nesse espaço (Cole e Sheath, 1990). Dados recentes demonstram que na parede celular há glicoproteínas similares a “proteoglicanos”, onde a cadeia proteica encontra-se unida a glicanos (Přerovská et al., 2021).

Esse conjunto de informações bioquímicas e morfológicas, quando bem coordenadas, são preciosas para proposição de processos de extração exitosos, visto que as metodologias utilizadas devem necessariamente romper/fraturar fisicamente a barreira inicial.

Além das biomoléculas supracitadas nesta sessão, há outras presentes nas rodófitas (Cian et al., 2015).

Desta forma, uma das primeiras etapas pré-extrativas na condução propriamente dita da obtenção de PS é a retirada destes compostos utilizando solvente orgânico como: álcool, acetona e diclorometano. Essa etapa deve ocorrer em temperatura ambiente e pode durar alguns dias. Após a delipidação, a rodófitas deve ser seca à temperatura ambiente, e processada até que se obtenha pedaços menores ou pó, quando possível (Farias et al., 2000).

Esse material é usualmente submetido à ação digestiva de enzimas proteolíticas não específicas (Farias et al., 2000). Entretanto, há metodologias extrativas conduzidas sem a utilização de enzimas, na qual são utilizados meios ácido ou alcalino e até mesmo água destilada (ver quadro 1). Nestes 3 casos é comum o uso de agitação mecânica e de temperaturas próximas de 90 °C (He et al., 2020, Grünwald, 2009 e Sánchez et al., 2019).

Quadro 1: Exemplos de métodos de extração de PS

Alga	Método de Extração	Rendimento	Autor(es)
<i>Gracilariopsis hommersandii</i>	Água destilada (90 °C) sob agitação mecânica	37%	Sánchez et al., 2019
<i>Botryocladia occidentalis</i>		4%	Farias et al., 2000

<i>Gelidium crinale</i>	Meio contendo enzima (a temperatura utilizada deve ser semelhante à temperatura ótima de ação da enzima)	2,4%	Pereira et al., 2005
<i>Gracilaria cornea</i>		11%	Melo et al., 2002
<i>Pyropia yezoensis</i>	Meio ácido (80 °C)	10%	He et al., 2020
<i>Delesseria sanguinea</i>	Meio alcalino (85°C a 90 °C)	11,6%	Grünewald, 2009
<i>Gracilaria edulis</i>		24 - 26%	Price e Bielig, 1992
<i>Gracilaria eucheumoides</i>		20 - 29%	Villanueva et al, 1999

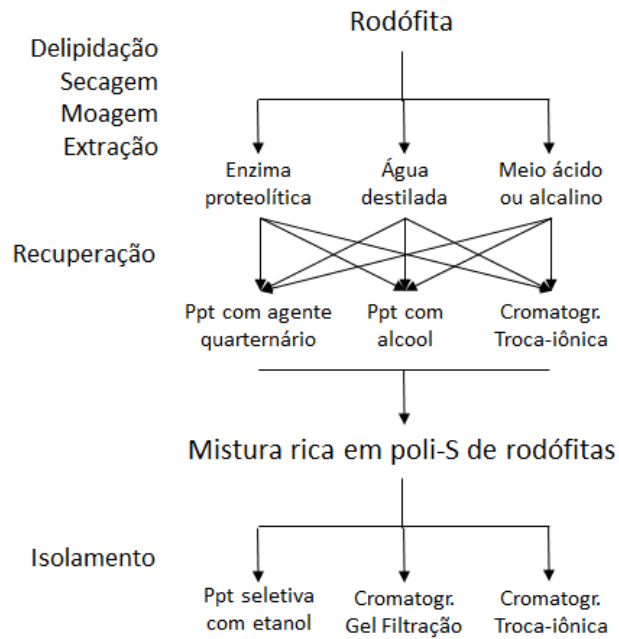
Nogueira et al; 2021

Com a etapa de extração concluída, se faz necessário a recuperação das moléculas de interesse, que podem ocorrer por precipitação utilizando, eletivamente, amônia quaternária e, quase que unanimemente, etanol (Farias et al., 2000). Há situações em que o pesquisador após a extração não utiliza nenhum dos dois agentes supracitados e aplica a solução rica em PS diretamente em matriz cromatográfica de troca-iônica comumente eluída em *step-wise* (Barros et al., 2013).

Após a recuperação dos PS torna-se imprescindível o processo de purificação. Devido às cargas negativas presentes na estrutura do PS é comum o emprego de cromatografia de troca-iônica utilizando para eluição gradiente linear de tampão contendo sal (Farias et al., 2000).

O uso de cromatografia de troca-iônica, tanto na etapa de recuperação quanto na etapa de purificação, auxilia na retirada de contaminantes e consequentemente aumenta o grau de pureza do composto desejado. Em alguns casos é utilizado cromatografia de gel filtração (Figura 4) para confirmação do alto grau de pureza (Chagas et al., 2020).

Figura 4 - Ilustração de alguns procedimentos simplificados e rotas para extração e isolamento de PS de rodófitas.



Fonte: Nogueira et al; 2021

Os presentes autores deste trabalho consideram a escolha dessas etapas essencial para a obtenção apropriada e bem sucedida de PS com alto grau de pureza (Figura 3). Essa condição é fundamental para a elucidação integral da estrutura e futura avaliação da atividade biológica do PS.

5.2 Estrutura química de PS de algas marinhas vermelhas

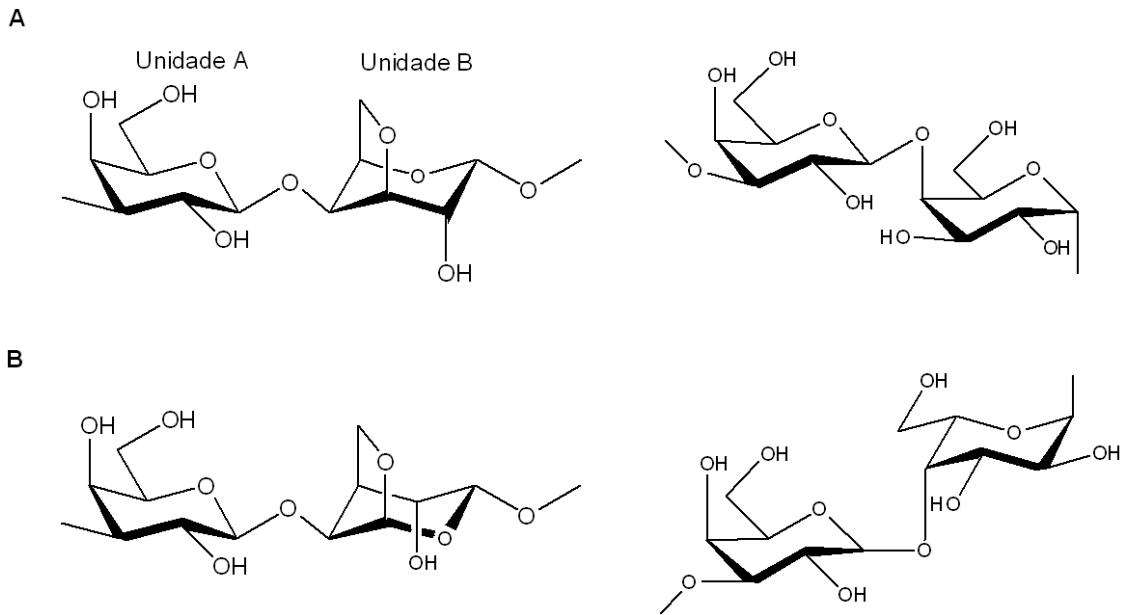
De forma geral, a estrutura de PS de macroalgas varia de forma espécie-específica. Assim, cada PS purificado a partir de uma alga marinha é, virtualmente, um composto original com características estruturais únicas e com potenciais atividades biológicas inexploradas.

Os açúcares comumente encontrados na parede celular de rodófitas são unidades de galactose ou galactose modificadas, contendo uma mistura de ligações (1→3) e/ou (1→4), com anômeros α - e/ou β - e enantiômeros D- e/ou L-. A maioria desses polissacarídeos apresenta estrutura linear construída por dissacarídeos repetitivos alternados de β -D-galactopiranosose-3-ligada (unidade A) e α -galactopiranosose-4-ligada (unidade B) (Usov, 2011 e Ciancia et al., 2020).

A primeira unidade de repetição (unidade A) sempre tem configuração D-, enquanto as últimas (unidade B), podem ser D- ou L-. Portanto, estes polissacarídeos são classificados de acordo com sua estereoquímica, especificamente isômeros L- com unidades α -galactopiranosose-4-ligada são agaranas (Figura 5B), enquanto as carragenanas (Figura 5A) são isômeros D-. Em ambos os casos, as últimas unidades aparecem como 3,6-anidrogactose ciclizada (Synytsya et al., 2015, Ciancia et al., 2020).

Ésteres de sulfato, éteres metílicos e o ácido pirúvico são frequentemente encontrados ligados a PS de rodófitas. Os grupos sulfato e/ou metil podem ocorrer na(s) posição(ões) O-2 e/ou O-4 das unidades galactopiranosil (1→3)- β -ligada e em O-2, O-3- e/ou posição(ões) O-6 das unidades galactopiranosil (1→4)- α -ligada; o ácido pirúvico pode ser ligado aos resíduos (1→3)- β -D-Galp como cetais nas posições O-4 e O-6. Os derivados 3,6-anidro de unidades D- e/ou L- podem estar presentes na estrutura da agarana após a eliminação do sulfato de O-6 por tratamento enzimático ou alcalino (Synytsya et al., 2015).

Figura 5 – Estrutura química básica diastereomérica alternada de GS de rodófitas.



Legenda: (A) Carragenanas e (B) Agaranas. Fonte: Adaptada de Usov, 2011; Ciancia et al., 2020.

As agaranas são constituídas por unidades alternadas de β -D-galactose 3-ligadas e unidades α -L-galactose 4-ligadas (Figura 3B). As unidades 4-ligadas podem ser parcialmente ou totalmente convertidas nas formas 3,6-anidro por eliminação do sulfato da posição 6 (Ciancia et al., 2020). Devido à complexidade e diversidade de seu padrão de substituição, não é possível classificar os agaranas em “unidades de repetição” ideais, já que apresenta diferentes substituintes como (Synytsya et al., 2015, Ciancia et al., 2020):

- Nas unidades 3- e 4-ligadas é possível encontrar grupos sulfato, grupos metoxil e/ou cadeias laterais β -D-xilopiranosil em diferentes posições,
- Nas unidades 3-ligadas é possível encontrar grupos 4-O-metil- α -L-galactopiranosil na posição 6 e
- Nas unidades 3-ligadas é possível encontrar cetais cíclicos de piruvato nas posições 4 e 6.

Uma classificação considerando o padrão de sulfatação das unidades A é possível, levando aos seguintes grupos de agarana (Ciancia et al., 2020):

- Grupo G compreende agaranas não sulfatada,
- Grupo G2S compreende agaranas com sulfatação na posição 2,
- Grupo G4S compreende agaranas com sulfatação na posição 4 e
- Grupo G6S compreende agaranas com sulfatação na posição 6.

Por outro lado, as carragenanas são polissacarídeos lineares com resíduos alternados de β -D-galactopiranosil 3-ligados (unidades A) e resíduos de α -D-galactopiranosil 4-ligados (unidades B), sendo a última unidade frequentemente encontrada ciclizada (Figura 4A). São classificadas por prefixos gregos de acordo com especificidade estrutural (Synytsya et al., 2015, Ciancia et al., 2020).

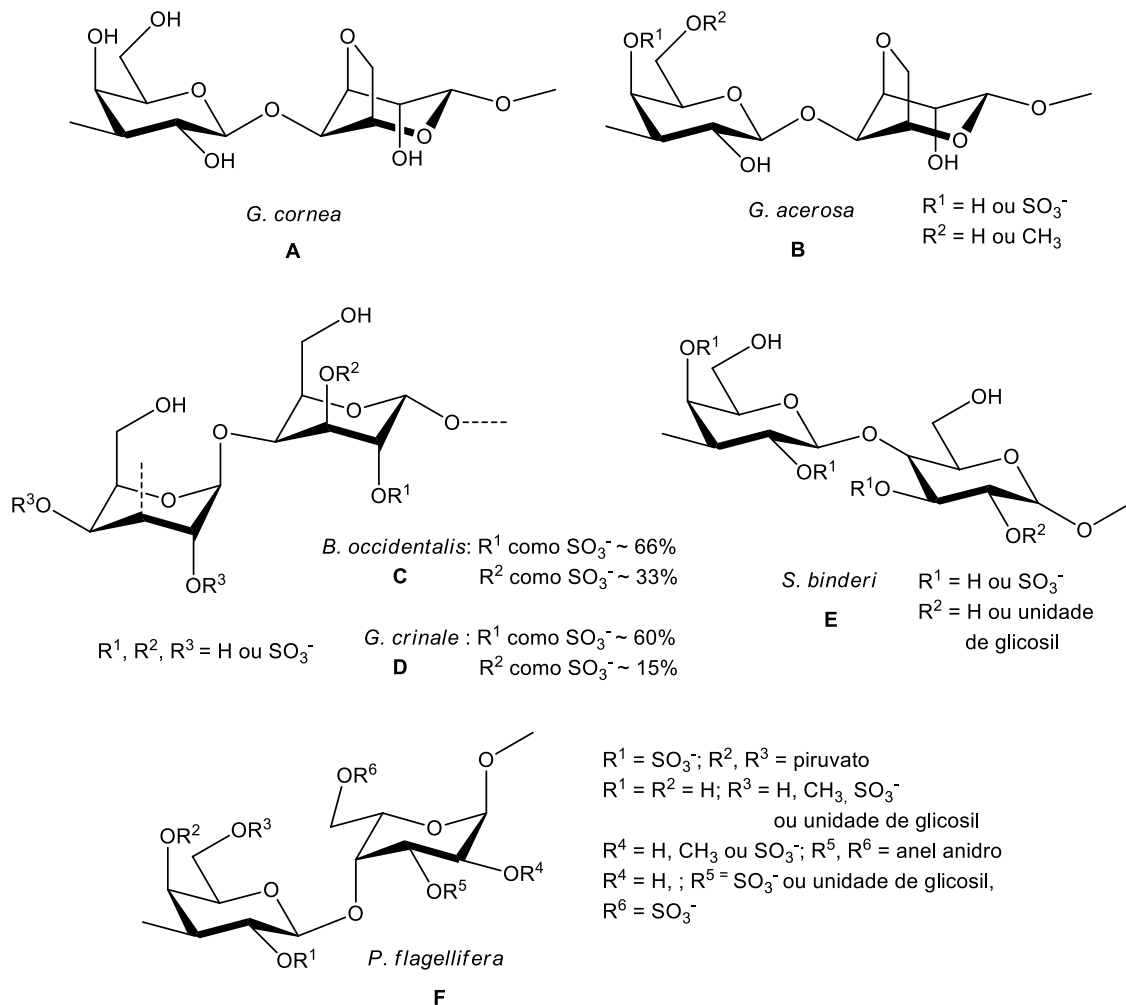
A estrutura química dos PS de *Gracilaria cornea*, *Gellidium crinale* e *Botryocladia occidentalis* foram determinados usando espectroscopia de RMN (^1H , ^{13}C , TOCSY, COSY e HMQC). A galactana sulfatada (GS) de *G. cornea* apresenta estrutura 3,6-anidro- α -L-galactose (Figura 4A), enquanto os polissacarídeos de *G. crinale* e *B. occidentalis* têm a estrutura de repetição (-3- β -D-Galp-(1 \rightarrow 4)- α -D-Galp-(1 \rightarrow), com um padrão de sulfatação variável (Figura 4C e D). A análise de RMN indica que as GS de *G. crinale* e *B. occidentalis* diferem nas proporções de resíduos de α -galactopiranosose 2,3-dissulfatados e 2-sulfatados. A galactose ocorre inteiramente como isômero D nesses PS (Pereira et al., 2005).

A espectroscopia RMN do polissacarídeo extraído do gametófito de *Schizymenia binderi* após tratamento alcalino mostrou uma estrutura base com unidades alternadas de β -D-galactopiranosil 3-ligadas e α -galactopiranosil 4-ligadas que são predominantemente da configuração D. Além disso, os grupos sulfato estão localizados principalmente nas posições O-2 do resíduo β -D-galactopiranosil-3-ligado e na posição O-3 de α -galactopiranosil-4-ligado resíduos, o último é parcialmente glicosilado na posição O-2 (Figura 4E) (Matsuhira et al., 2005).

O PS de *Gelidiella acerosa* obtido após análises espectroscópicas por FT-IR e RMN apresentou ter 37,2% de β -D-galactose, 41,7% de α -L-anidrogalactose e 20,9% de 6-O-metil- β -D-galactose (Figura 4B) (Chagas et al., 2020).

A fração homogênea rica em agarana extraída de *Palisada flagellifera* apresenta mistura com pelo menos 18 tipos diferentes de derivados estruturais. De forma geral, é uma agarana sulfatada, metilada e piruvilada, sendo presente unidades de α -L-galactose 2- e 3,6-sulfatadas e 2-O-metiladas. Além disso, uma parte importante das unidades B (20%) é representada por ramificação contendo α -L-galactose 6-sulfato substituído em C-3 por unidades xilosil, galactosil e/ou 2,3-di-O-metil-galactose ou grupos sulfato que impedem sua ciclização em derivado 3,6-anidrogalactosil (Figura 4F) (Ferreira et al., 2012).

Figura 6 - Estrutura química de galactanas extraídas das algas vermelhas *Gracilaria cornea* (A), *Gelidiella acerosa* (B), *Botryocladia occidentalis* (C), *Gelidium crinale* (D), *Schizymenia binderi* (E) e *Palisada flagellifera* (F).



Fonte: Adaptada de Pereira et al., 2005; Chagas et al., 2020; Matsihiro et al., 2005; Ferreira et al., 2012.

5.3 Atividade anticoagulante de PS de algas marinhas vermelhas

Os PS de rodófitas apresentam-se substâncias com amplo potencial anticoagulante. Sendo assim, são consideradas como moléculas promissoras para o desenvolvimento de novos fármacos alternativos ao uso da heparina. Isso se deve à diversidade estrutural que fornece a possibilidade de atuação com diferentes mecanismos de ação (Rocha et al., 2006; Pomin e Mourão, 2012).

A ação anticoagulante da maioria dos PS é baseada, principalmente, na potencialização de inibidores fisiológicos das proteases presentes no plasma, como as serpinas; antitrombina (AT) e cofator II de heparina (HCII). Para o entendimento desses mecanismos, primeiramente é necessário compreender o funcionamento fisiológico do sistema de coagulação sanguínea (Pomin, 2009).

Resumidamente, em 1964, Macfarlane, Davie e Ratnoff descreveram o modelo clássico da chamada “cascata de coagulação sanguínea” que foi utilizado por quase 50 anos e ainda tem validade acadêmica-científica. Nesse modelo a “cascata” é dividida em duas vias: a via intrínseca (ou de contato) e a via extrínseca (ou dependente de fator tecidual), que são iniciadas independentemente, mas convergem na via comum, onde o fator X (FX) é ativado e converte protrombina (FII) em trombina (FIIa), esta é responsável pela conversão do fibrinogênio em fibrina (Vine, 2009; Zago et al., 2013).

Diante de questionamentos ao longo dos anos, houve a revisão do modelo clássico da coagulação em “cascata”. Dessa forma, foi desenvolvido um modelo baseado em superfícies celulares, que condensa outros aspectos da hemostasia e com isso apresenta uma compreensão mais ampla desses sistemas. Entretanto, na visão de alguns autores, inclusive os deste trabalho, não se deve descartar por completo o modelo clássico, pois ele ainda fornece boa explicação e predição dos fenômenos que acontecem *in vitro*, sendo muito útil para: fins didáticos, realização de testes laboratoriais e análise de compostos biologicamente ativos (Vine, 2009; Ferreira et al., 2010; Silva e Melo, 2016).

Os testes, atualmente empregados na avaliação e controle da coagulação sanguínea, levam em consideração interações moleculares uma vez que é empregado somente o plasma sanguíneo, sem a presença de células. Dessa forma, consegue-se avaliar as vias intrínseca, extrínseca e comum da

coagulação, principalmente através dos testes laboratoriais de tromboplastina parcial ativada (TTPa) e tempo de protrombina (TP) (Ochoa, 2017).

Como citado anteriormente, o modelo clássico da “cascata de coagulação sanguínea” é empregado nas avaliações laboratoriais *in vitro*. O TTPa é utilizado a fim de avaliar as vias intrínseca e comum da coagulação, apresentando tempo controle entre 30 e 45 segundos, podendo estar prolongado nas deficiências seletivas ou conjuntas da maioria dos fatores (exceto FVII e FXIII). O teste de TTPa auxilia no monitoramento de pacientes que fazem uso de anticoagulantes, como heparina, ou na investigação de hemofilias (Funk et al., 2012; Magalhães, 2018).

O TP é um procedimento laboratorial capaz de avaliar a via extrínseca, sendo que, dos fatores envolvidos nesta via, os FII, FVII e FX são dependentes da vitamina K, possuindo um tempo de coagulação do plasma controle entre 12 e 15 segundos, tendo esse tempo prolongado nas deficiências seletivas ou conjuntas dos fatores II, V, VII e X. Pode-se, então, ser utilizado para monitorar a função hepática, uma vez que o fígado é o responsável pela produção das proteínas plasmáticas, ou para investigação de deficiência de vitamina K (Funk et al., 2012; Magalhães, 2018).

Estes testes são empregados para determinar o tempo de coagulação sanguínea, sendo importantes na avaliação do sistema hemostático sob condições pré-clínicas nos laboratórios (Hoffman e Monroe, 2007; Ochoa, 2017).

A GS extraída de *Botryocladia occidentalis* é descrita como um PS com atividade anticoagulante semelhante à heparina, por potencializar a inibição da trombina e do FXa na presença de AT e/ou HCII (FARIAS et al., 2000). Adicionalmente, esta GS demonstrou inibir os complexos tenase intrínseco e protrombinase, essenciais na formação de FXa e trombina, respectivamente (Glauser et al., 2009).

Uma outra GS isolada de *Gelidium crinale* se mostrou ativa em ensaios de coagulação, sendo menos potente que a da *B. occidentalis* na inibição da trombina mediada pela AT ou HCII. No entanto, nos ensaios de inibição do FXa, a GS da *G. crinale* se mostrou mais eficiente (Pereira et al., 2005).

As GS extraídas das rodófitas *Agardhiella subulata* e *Gelidiella acerosa* necessitam de concentrações mais elevadas para prolongar o tempo de

coagulação no ensaio de TTPa do que as obtidas de *G. crinale* ou *B. occidentalis* (Faggio et al., 2015; Chagas et al., 2020).

Se por um lado a atividade avaliada por TTPa é comum, por outro lado a atividade via TP é inabitual, sendo raramente observada na literatura. Por esse motivo, a dupla atividade positiva, sobre o TTPa e o TP, é considerada extraordinária. Alguns dos relatos de dupla atividade nas vias do sistema de coagulação incluem os PS obtidos de *B. occidentalis* (Farias et al., 2000), *Chondrus armatus* (Sokolova et al., 2014), *Agardhiella subulata* (Faggio et al., 2015) e *Gracilaria debilis* (Sudharsan et al., 2015).

É importante ressaltar que existem PS extraídos de rodófitas que não possuem atividade anticoagulante. Esta característica está associada, principalmente, à diferença estrutural deles, como é o caso da alga *Gracilaria caudata* (Barros et al., 2013).

Como já anteriormente mencionado, existem evidências científicas crescentes que sugerem diferentes interações entre os PS e as proteínas específicas do sistema de coagulação, baseado nos diferentes padrões estruturais, formando um complexo particular entre o inibidor plasmático e a protease alvo. Embora raro, é possível encontrar PS de rodófitas capazes de desempenhar atividade anticoagulante independentemente da interação com as proteínas da coagulação, como é o caso da GS presente na rodófito *B. occidentalis*, que demonstrou atividade através de mecanismos dependentes e independentes de serpinas (Glauser et al., 2009).

Tabela 2: Relação de PS extraídos de rodófitas e suas respectivas atividades anticoagulante.

Ensaio		Algas					
		(a.g) <i>B. occidentalis</i>	(b) <i>G. crinale</i>	(c) <i>C. armatus</i>	(d) <i>A. subulata</i>	(e) <i>G. acerosa</i>	(f) <i>G. caudata</i>
TTPa	Conc. (mg/mL)	0,1	0,1	20	10.000	1.000	2.000
	Atividade (%)	400	100	130	350	233	N.D
TP	Conc. (mg/mL)	1	N.T	10	10.000	2.000	2.000

	Atividade (%)	250	N.T	40	48	N.D	N.D
AT/IIa	Conc. (mg/mL)	0,1	0,1	-	-	-	-
	Atividade (%)	75	80	N.T	N.T	N.T	N.T
AT/Xa	Conc. (mg/mL)	10	1	-	-	-	-
	Atividade (%)	60	70	25	N.T	N.T	N.T
HCII/IIa	Conc. (mg/mL)	1	10	-	-	-	-
	Atividade (%)	50	60	N.T	N.T	N.T	N.T
Sem serpinas	Conc. (mg/mL)	5	-	-	-	-	-
	Atividade (%)	400	N.T	N.T	N.T	N.T	N.T

Legenda: Na linha atividade foi escolhido a apresentação dos valores em percentual considerando o tempo controle de 30 segundos. Legenda: Não detectado, (N.D.); Não testado, (N.T); concentração, (Conc.). Dados retirados de: ^(a) Farias et al., 2000, ^(b) Pereira et al., 2005, ^(c) Sokolova et al., 2014, ^(d) Faggio et al., 2015, ^(e) Chagas et al., 2020, ^(f) Costa, 2008, ^(g) Quinderé et al., 2014.

6. Conclusão

Não há etapas rígidas no processo de extração e purificação dos PS de rodófitas. Na visão dos autores do presente trabalho é conveniente que as primeiras etapas ao processo de isolamento tenham “seletividade” para que as etapas de purificação sejam simplificadas, especialmente porque são normalmente, mais longas.

Esses procedimentos devem ser testados para que sejam definidos quais serão as melhores estratégias na prática de cada laboratório. É aconselhado que os pesquisadores executem uma revisão da literatura para saber se outros grupos de pesquisa já realizaram estudos de extração de PS e também outras classes de compostos e usem alguns conceitos expostos nos trabalhos como inspiração.

Com o PS purificado há diversas estratégias para elucidação. Há alguns anos os grupos de pesquisa vem utilizando técnicas de ressonância magnética nuclear uni e bidimensional, a qual consegue-se definir posição de sulfatação, posição da ligação glicosídica e até mesmo ramificação, quando houver. Outras abordagens metodológicas são o infra-vermelho e a derivatização do PS para posterior aplicação desse produto quimicamente alterado em cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa. Estas técnicas ainda se mostram importantes na definição do monossacarídeo constituinte e possíveis pontos de substituição nos polímeros (Jiao et al., 2011 e Xu et al., 2019).

Ademais, a etapa de elucidação estrutural carrega uma grande importância na correlação entre estrutura química vs. função biológica. Estudos recentes apontam justamente quais são os principais requisitos estruturais para que um PS possua atividade anticoagulante. No caso dos PS de rodófitas, os quais são majoritariamente compostos por galactose e unidos por ligação do tipo 1→4 indicasse que a sulfatação nas posições 2 e 3 são importantes na extensão do tempo necessário para a formação da rede de fibrina (Pomin, 2014).

Na opinião dos autores deste trabalho, as rodófitas são uma excelente fonte para bioprospecção de PS (e outras classes de moléculas) com a possibilidade de encontrar moléculas farmacologicamente ativas, portanto, de interesse comercial e, principalmente, de ganho para a saúde da população. Portanto, sugere-se estudos mais aprofundados a respeito dos PS extraídos de algas, bem

como suas metodologias de extração, a fim de elucidar as estruturas químicas destes PS. E desta forma, expandir os ensaios de coagulação sanguínea, tanto gerais quanto específicos, de modo que a atividade anticoagulante das algas marinhas vermelhas seja demonstrada.

Referências bibliográficas

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

BRITANNICA ILLUSTRATED SCIENCE LIBRARY. **Plants, Algae, and Fungi**, Editora: Encyclopedia Britannica Inc. 2008.

BUDZAŁEK, G.; SLIWINSKA-WILCZEWSKA, S.; WISNIEWSKA, K.; WOCHNA, A.; BUBAK, I.; LATAŁA, A.; WIKTOR, J.M. **Macroalgal Defense against Competitors and Herbivores**. Int. J. Mol. Sci. 2021, 22, 7865. <https://doi.org/10.3390/ijms22157865>.

CHAGAS, F.D.S. et al. **Sulfated polysaccharide from the red algae *Gelidiella acerosa*: Anticoagulant, antiplatelet and antithrombotic effects**. International Journal of Biological Macromolecules. v. 159, p. 415-421, 2020.

CIAN, R.E. et al. **Proteins and Carbohydrates from Red Seaweeds: Evidence for Beneficial Effects on Gut Function and Microbiota**. Marine Drugs. v. 13, n. 8, p. 5358-83, 2015.

CIANCIA, M. et al. **Diversity of Sulfated Polysaccharides From Cell Walls of Coenocytic Green Algae and Their Structural Relationships in View of Green Algal Evolution**. Frontiers in Plant Science. v. 11, art. 559986, 2020.

COLE, K.M. & SHEATH, R.G. **Biology of the red algae**. Cambridge University Press, Cambridge, p. 517, 1990.

COSTA, L.S. **Atividades biológicas de polissacarídeos sulfatados extraídos da alga vermelha *Gracilaria caudata***. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal, p. 43. 2008.

CRAIGIE, J. S. et al. **Cuticles from *Chondrus crispus***. J. Phycol. v. 28, p. 777–86, 1992

FAGGIO, C et al. **Evaluation of anticoagulant activity of two algal polysaccharides**. Natural Product Research, v. 30, n. 17, p. 1934–1937, 2015.

FARIAS, W.R. et al. **Structure and anticoagulant activity of sulfated galactans. Isolation of a unique sulfated galactan from the red algae**

Botryocladia occidentalis and comparison of its anticoagulant action with that of sulfated galactans from invertebrates. J Biol Chem. Sep 22;v. 275, n. 38, p. 29299-307, 2000.

FERREIRA, C.N. et al. **O novo modelo da cascata de coagulação baseado nas superfícies celulares e suas implicações.** Revista Brasileira Hematol Hemoter., v. 32, n. 5, p.416-42, 2010.

FERREIRA, L.G. et al. **Chemical structure of the complex pyruvylated and sulfated agaran from the red seaweed *Palisada flagellifera* (Ceramiales, Rhodophyta).** Carbohydrate Research. v. 347, n. 1, p. 83-94, 2012.

FORZZA, RC., org., et al. INSTITUTO DE PESQUISAS JARDIM BOTÂNICO DO RIO DE JANEIRO. **Catálogo de plantas e fungos do Brasil [online].** Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson Estúdio: Instituto de Pesquisa Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2010. 871 p. Vol. 1. ISBN 978-85-8874-242-0.

FUNK, D.M.A; LIPPI, G.; FAVALORO, E.J. **Quality Standards for Sample Processing, Transportation, and Storage in Hemostasis Testing.** Seminars in Thrombosis and Hemostasis, 2012, 38(6):576-85.

GAO, F.; NAN, F.; FENG, J.; XIE, S. **Characterization and comparative analysis of microRNAs in 3 representative red algae.** Iran. J. Biotechnol. October 2021;19(4): e2868

GLAUSER, B.F. et al. **Anticoagulant activity of a sulfated galactan: Serpin-independent effect and specific interaction with factor Xa.** Thromb. Haemost. v. 102, p. 1183–1193, 2009.

GRÜNEWALD, N., & ALBAN, S. **Optimized and standardized isolation and structural characterization of anti-inflammatory sulfated polysaccharides from the red alga *Delesseria sanguinea* (Hudson) Lamouroux (Ceramiales, Delesseriaceae).** Biomacromolecules, v. 10, n. 11, p. 2998–3008, 2009.

HA, H.T.; CUONG, D.X.; THUY, L.H.; THUAN, P.T.; TUYEN, D.T.T.; MO, V.T.; DONG, D.H. **Carrageenan of Red Algae *Euclima gelatinae*: Extraction, Antioxidant Activity, Rheology Characteristics, and Physicochemistry Characterization.** Molecules 2022, 27, 1268. <https://doi.org/10.3390/molecules27041268>

HE, D. et al. **Gamma-irradiation degraded sulfated polysaccharide from a new red algal strain *Pyropia yezoensis* Sookwawon 104 with *in vitro* antiproliferative activity.** *Oncol Lett.* v. 20, n. 4, p. 91, 2020.

HOFFMAN, M.; MONROE, D. M. **Coagulation 2006: a modern view of hemostasis.** *Hematology/oncology clinics of North America*, 2007, 21(1), 1-11.

ISMAIL, M.M. et al. **Therapeutic Uses of Red Macroalgae.** *Molecules.* v. 25, n. 19, p. 4411, 2020.

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

KLOAREG, B. & QUATRANO, R.S. **Structure of the Cell Walls of Marine Algae and Ecophysiological Functions of the Matrix Polysaccharides.** *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review*, v. 26, p. 259-315, 1988.

MELO, M.R.S. et al. **Isolation and characterization of soluble sulfated polysaccharide from the red seaweed *Gracilaria cornea*.** *Carbohydrate Polymers.* v. 49, p. 491-498, 2002.

MATSUHIRO, B. et al. **Structural analysis and antiviral activity of a sulfated galactan from the red seaweed *Schizymenia binderi* (Gigartinales, Rhodophyta).** *Carbohydrate Research*, v. 340, n. 15, p. 2392-2402, 2005.

MCRAE, H.L. et al. **Updates in Anticoagulation Therapy Monitoring.** *Biomedicines.* v. 9, n. 3, p. 262, 2021.

MOURÃO, P.A.S.; PEREIRA, M. **Searching for Alternatives to Heparin: Sulfated Fucans from Marine Invertebrates,** *Trends in Cardiovascular Medicine*, Volume 9, Issue 8, 1999, Pages 225-232.

GUIRY, M.D. et al. **AlgaeBase: An On-line Resource for Algae.** *Cryptogamie, Algologie.* v. 35, n. 2, p. 105-115, 2014.

OCHOA, Y.R. **Atividades anticoagulante e antitrombótica de Polissacarídeos sulfatados e fosforilados.** Tese de doutorado (Ciências – Bioquímica). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2017.

PEI Y, YANG S, XIAO Z, ZHOU C, HONG P AND QIAN Z-J (2021). **Structural Characterization of Sulfated Polysaccharide Isolated From Red Algae (*Gelidium crinale*) and Antioxidant and Anti-Inflammatory Effects in Macrophage Cells.** *Front. Bioeng. Biotechnol.* 9:794818. doi: 10.3389/fbioe.2021.794818

PEREIRA, M. G. et al. **Structure and anticoagulant activity of a sulfated galactan from the red alga, *Gelidium crinale*. Is there a specific structural requirement for the anticoagulant action?** *Carbohydr Res.* v. 340, n. 12, p. 2015-23, 2005.

POMIN, V.H. **Review: An overview about the structure–function relationship of marine sulfated homopolysaccharides with regular chemical structures.** *Biopolymers.* v. 91, n. 8, p. 601-609, 2009.

POMIN, V. H. & MOURÃO, P. A. S. **Structure versus anticoagulant and antithrombotic actions of marine sulfated polysaccharides.** *Revista Brasileira de Farmacognosia.* v. 22, n. 4, p. 921-928, 2012.

POMIN, V.H. **Anticoagulant motifs of marine sulfated glycans.** *Glycoconj J.* v. 31, n. 5, p. 341-4, 2014.

POMIN, V.H. **How to analyze the anticoagulant and antithrombotic mechanisms of action in fucanome and galactanome?** *Glycoconj J.* Feb;31(2):89-99, 2014.

PŘEROVSKÁ, T. et al. **Arabinogalactan-like Glycoproteins from *Ulva lactuca* (Chlorophyta) Show Unique Features Compared to Land Plants AGPs.** *J Phycol.* v. 57, n. 2, p. 619-635, 2021.

PRICE, I.R., & BIELIG, L.M. **Agar Yield from *Gracilaria edulis* (Gracilariales, Rhodophyta) in the Townsville Region, Eastern Tropical Australia.** *Botanica Marina.* v. 35, n. 5, 1992.

QUINDERÉ, A.L.G. et al. **Is the antithrombotic effect of sulfated galactans independent of serpin?** *J Thromb Haemost.* v. 12, p. 43–53, 2014.

RAVEN. **Biologia vegetal.** 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014.

ROCHA, H. A. O.; FARIAS, E. H. C.; BEZERRA, L. C. L. M.; ALBUQUERQUE, I. R.L.; MEDEIROS, V. P.; QUEIROZ, K. C. S.; LEITE, E. L. **Polissacarídeos sulfatados de algas marinhas com atividade anticoagulante**. Infarma, 2004, v. 16, p. 1-2.

ROCHA, H.A.O. et al. **Natural sulfated polysaccharides as anti thrombotic compounds. Structural characteristics and effects on the coagulation cascade**. Insights into carbohydrate structure and biological function. p 19, 2006.

SÁNCHEZ, R.A.R. et al. **Gracilariopsis hommersandii, a red seaweed, source of agar and sulfated polysaccharides with unusual structures**. Carbohydrate polymers, 213, 138–146, 2019.

SHEATH, R.G. **The biology of freshwater red algae**. In Round, F. E. & Chapman, D. J. [Eds.] Progress in Phycological Research, vol 3. Biopress Ltd, Bristol UK, pp. 89–157, 1984.

SILVA, R.D.R & MELO, E.M. **A atual teoria da coagulação baseada em superfícies celulares**. Saúde e Ciência em ação. v. 2, n. 1, 2016.

SOKOLOVA, E.V. et al. **Influence of red algal sulfated polysaccharides on blood coagulation and platelets activation *in vitro***. Journal of Biomedical Materials Research A. v. 102, n. 5, p. 1431–1438, 2014.

SUDHARSAN, S. et al. **Antioxidant and anticoagulant activity of sulfated polysaccharide from *Gracilaria debilis* (Forsskal)**. International Journal of Biological Macromolecules. v. 81, p. 1031–1038, 2015.

SYNYTSYA, A. et al. **Cell wall polysaccharides of marine algae**. In Springer handbook of marine biotechnology (pp. 543-590). Springer, Berlin, Heidelberg, 2015.

USOV, A. I. **Polysaccharides of the red algae**. Advances in carbohydrate chemistry and biochemistry. v. 65, p. 115-217, 2011.

VILLANUEVA, R.D. et al (1999). **Seasonal Variations in the Yield, Gelling Properties, and Chemical Composition of Agars from *Gracilaria eucheumoides* and *Gelidiella acerosa* (Rhodophyta) from the Philippines**. Botanica Marina, v. 42, n. 2, 1999.

VINE, A.K. **Recent Advances in Haemostasis and Thrombosis**. Retina. v. 29, p. 1 – 7, 2009.

XU. Y. et al. **Chemically modified polysaccharides: Synthesis, characterization, structure activity relationships of action**. Int J Biol Macromol. v. 132, p. 970-977, 2019.

ZAGO, M.A. et al. **Tratado de hematologia**. São Paulo: Editora Atheneu, 2013.

ZANELA, Cesar. **Fisiologia humana**. Rio de Janeiro: SESES, 2015. 188 p : il.

Apêndice

Link da publicação do capítulo de livro que originou este trabalho:
<https://www.atenaeditora.com.br/catalogo/ebook/trajetoria-e-pesquisa-nas-ciencias-farmaceuticas-2>